



## Udbrud med *Clostridium septicum* i danske mink

Larsen, Gitte; Nonnemann, Bettina; Holm, Elisabeth; Pedersen, Karl; Chriél, Mariann

*Published in:*  
Faglig årsberetning 2015

*Publication date:*  
2016

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

*Citation (APA):*  
Larsen, G., Nonnemann, B., Holm, E., Pedersen, K., & Chriél, M. (2016). Udbrud med *Clostridium septicum* i danske mink. In *Faglig årsberetning 2015: København Fur* (pp. 105-108). København Fur.

---

### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

**Faglig Årsberetning**

**2015**

**Kopenhagen Fur**



**Annual Report**

**2015**

**Kopenhagen Fur**



**Faglig Årsberetning**

**2015**

**Kopenhagen Fur**

**Annual Report**

**2015**

**Kopenhagen Fur**

## **Kopenhagen Fur**

Agro Food Park 15  
DK-8200 Aarhus N  
Danmark

Tlf.: 72 13 28 00  
e-mail: forskning@kopenhagenfur.com

---

---

## **Faglig Årsberetning 2015**

**Oplag: 300 stk.**

Forsidefoto: Jesper Clausen

Typografi: Arial

Layout: Mette Line Christiansen

Tryk: DP/DPA

Redaktion: Kopenhagen Forskning og Rådgivning

Redaktionen sluttede februar 2016

## Forord

ved Forskning- og Rådgivningschef

*Peter Foged Larsen*.....5

## Adfærd

### Tævens motivation for yngelpleje falder med kuldets alder samt med antallet af hvalpe..7-14

The mink dam motivation for maternal care decrease with both litter age and the number of kits.

*Jens Malmkvist, Dennis D. Sørensen, Torben Larsen, Rupert Palme & Steffen W. Hansen*

### Det er muligt at udtage en repræsentativ stikprøve af dyr ud fra antallet af bure med mink i hver hal.....15-23

It is possible to take a representative sample of animals based on the number of cages in use in each shed.

*Anna F. Marsbøll, Britt I.F. Henriksen & Steen H. Møller*

## Avl og Reproduktion

### Udvikling af metode til at screene minktævers urin for at bestemme drægtighed.....25-31

Development of a method to screen the urine of female mink to determine pregnancy.

*Mette Skou Hedemann*

## Ernæring og fodring

### Fodring i diegivningsperioden hos brune mink.....33-40

Feeding brown mink in the lactation period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Svinefedt eller sojaolie til mink i dieperioden.....41-46

Lard or soya oil to mink in the lactation period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Fodring en eller tre gange dagligt i vækstperioden.....47-51

Feeding one or three times daily in the growth period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Organiske mineraler i vækstperioden til mink.....53-60

Organic minerals in the growth period for mink.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Reduceret protein til minkhvalpe i vækst og pelsætningsperioden.....61-68

Reduced protein to mink kits in the growing-furring period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau - Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015.....69-78

Selection of mink that perform well on a low protein feed - Status for growing-furring period 2014 and breeding period 2015.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

### Minks behov for vitamin E fra fravænnning til pelsning .....79-84

Mink's requirement for vitamin E from weaning to pelting.

*Dirte Clausen, Søren K. Jensen, Tor Mikael Lassén, Tove N. Clausen & Peter F. Larsen*

### Minkens proteinbehov før og efter implantation.....85-89

Protein requirements in mink before and after implantation.

*Connie Frank Matthiesen & Anne-Helene Tauson*

## Sundhed

### Overførsel af Aleutian Mink Disease Virus med lopper.....91-94

Transmission of Aleutian Mink Disease Virus with fleas.

*Christina Marie Hartby, Trine Hammer Jensen, Kim Søholt Larsen, Mette Sif Hansen, Mariann Chriél, Lars Erik Larsen, Tina Struve & Charlotte Kristiane Hjulsager*

### *Arcanobacterium phocae* infektioner hos danske mink.....95-99

*Arcanobacterium phocae* infections in Danish mink.

*Bettina Nonnemann, Mariann Chriél, Gitte Larsen, Mette Sif Hansen, Elisabeth Holm & Karl Pedersen*

### Forbedret diagnostik af mink enteritis virus (MEV).....101-104

Improved diagnostics of mink enteritis virus (MEV)

*Lise Kirstine Kvisgaard, Elisabeth Holm, Mariann Chriél, Lars Erik Larsen & Charlotte Kristiane Hjulsager*

### Udbrud med *Clostridium septicum* i danske mink.....105-108

Outbreak of *Clostridium septicum* in Danish mink.

*Gitte Larsen, Bettina Nonnemann, Elisabeth Holm, Karl Pedersen & Mariann Chriél*

**Udbrud af influenza på danske minkfarme i 2014.....109-113**

Subtyping of influenza in Danish mink farms in 2014.

*Charlotte K. Hjulsager, Jesper S. Krog, Mariann Chriél, Gitte Larsen & Lars E. Larsen*

**Lammelser af bagparten hos mink forårsaget af knoglemarvsbetændelse i ryghvirvlerne .....115-117**

Paralysis in mink due to diskospondylitis.

*Gitte Larsen, Bettina Nonnemann, Lene Buelund, Elisabeth Holm, Tim Kåre Jensen & Mariann Chriél*

**Metabolomics som værktøj til at identificere markører for sårhelingsprocessen hos mink .....119-125**

Metabolomics as a tool for identification of markers for the wound healing process in mink.

*Mette Skou Hedemann, Anna Jespersen & Anne Sofie Vedsted Hammer*

**Foreløbige resultater af undersøgelser af den mikrobielle sammensætning i tarmkanalen hos farmmink (*Neovison vison*).....127-131**

Preliminary results of investigations of gut microbiota of farm mink (*Neovison vison*).

*Anne Sofie Hammer, Lars Andresen, Tove N. Clausen, Anabelle Jacobsen & Martin Iain Bahl*

**Anvendelse af behandlingskort til indsamling af data fra minkfarme med udbrud af diarré i diegivningsperioden.....133-140**

Application of processing maps for collection of data from mink farms with an outbreak of diarrhea in the pre-weaning period.

*Christina Dahlin, Julie Melsted Birch, Jens Frederik Agger, Henrik Elvang Jensen, Tina Struve & Anne Sofie Hammer*

## **Driftsforhold**

**Ekstra vandtildeling til sorte tæver og hvalpe i dieperioden.....141-145**

Additional water for mink kits in the lactation period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

**Dieperiodens forløb hos anden-års tæver der har gået med en hanhvalp eller gået alene i den foregående vækstperiode.....147-149**

Reproduction in second year old females who was kept alone or with a male kit in the previous growth period.

*Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen*

## Forord

Faglig Årsberetning 2015 indeholder 22 faglige artikler, som er et resultat af årets indsats fra København Furs samarbejdspartnere på de danske universiteter såvel som København Furs egne medarbejdere.

Indholdet i Faglig Årsberetning 2015 har stor faglig bredde og dybde, således at artiklerne dækker alle faggrene både mht. grundforskning, metodeudvikling og undersøgelser med direkte relevans for den praktiske anvendelse på danske minkfarme og fodercentraler.

Tak til alle bidragsydere til Faglig Årsberetning 2015. I har alle lagt et stort stykke arbejde i jeres forskning og udarbejdelsen af faglig indlæg.

Desuden vil jeg takke konsulent Mette Line Christiansen for kritisk gennemlæsning og opsætning. Jesper Clausen har bidraget med forsidebilledet i år.

Faglig Årsberetning er inddelt i hovedafsnit. Alle artikler indledes med både et dansk og et engelsk sammendrag. De faglige artikler er sat med to spalter, dog således at større figurer og tabeller er i fuld sidebredde.

Artiklerne er sat således, at begge spalter før en gennembrydning læses færdigt, inden man går videre til den gennembrydende figur eller tabel og de nedenstående spalter.

Artiklerne fra Faglig Årsberetning findes desuden på København Furs hjemmeside indeholdende farvebilleder og figurer i farver.

Med håb om at Faglig Årsberetning 2015, må blive fundet spændende, lærerig og bevaringsværdig, ønsker jeg alle god fornøjelse med læsningen.

Aarhus, februar 2016

Forskning- og Rådgivningschef  
*Peter Foged Larsen*





# Tævens motivation for yngelpleje falder med kuldets alder samt med antallet af hvalpe

Jens Malmkvist<sup>1</sup>, Dennis D. Sørensen<sup>2</sup>, Torben Larsen<sup>1</sup>, Rupert Palme<sup>3</sup> & Steffen W. Hansen<sup>1</sup>

1. Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet – Foulum, Danmark.

2. Dansk Teknologisk Institut, Aarhus, Danmark

3. Dept. Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine, Wien, Østrig

## Sammendrag

Vi undersøgte effekter af at adskille tæven fra kullet ved enten dag  $49 \pm 1$  (7 uger,  $n = 185$ ) eller dag  $56 \pm 1$  (8 uger,  $n = 189$ ) efter fødsel, med brug af i alt 374 førsteårs brune tæver. Kuld størrelsen var ens ( $P = 0,76$ ) i de to grupper ved adskillelsen ( $5,5 \pm 0,17$ , range 1-11 hvalpe;  $P = 0,76$ ). Ligeledes var der ingen forskelle i tævens vægt eller huld mellem de to grupper ( $P = 0,43$ ). Derimod påvirkede kuld størrelsen tævens vægt og huld negativt ( $P < 0,001$ ), uanset kuldets alder. Stereotypier på flyttedagen (D0) og dagen efter (D1) blev påvirket af gruppe (8 uger  $> 7$  uger) og steg med antallet af hvalpe i kullet ( $P < 0,01$ ). Dette tyder på, at tæven har oplevet sult/energiunderskud i den foregående periode med kullet. Vi fandt ingen tegn på problemer med dienvorter eller med betændelse, vurderet visuelt og ved måling af overfladetemperaturer vha. infrarød termografi (IRT) af 2042 dienvorter, hvoraf 83 % var aktive, på 342 tæver. Tæver flyttet efter 7 uger havde en højere koncentration af stresshormon den første uge efter flytningen ( $P = 0,014$ ). Andelen af tæver med kald efter hvalpe var højest ved 7 uger ( $P = 0,024$ ). Vi tolker disse resultater som en højere motivation for yngelpleje hos tæver ved 7 end 8 uger efter fødslen. Desuden faldt andelen af kaldende tæver med kuld størrelsen ( $P = 0,022$ ). Foruden alderen er antallet af hvalpe i kullet derfor af betydning for tævens motivation for yngelpleje, og bør tages i betragtning ved fastlæggelse af det optimale adskillestidspunkt på minkfarme.

**Malmkvist, J., Sørensen, D.D., Larsen, T., Palme, R. & Hansen, S.W., 2016.** Tævens motivation for yngelpleje falder med både kuldets alder og antallet af hvalpe. Faglig Årsberetning 2015, 7-14. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

We investigated effects of separating the dam from the litter using brown first-parity farm mink dams ( $n = 374$ ) taken away from the litter either day  $49 \pm 1$  (7 weeks,  $n = 185$ ) or day  $56 \pm 1$  (8 weeks,  $n = 189$ ) after birth. The two treatment groups had an equal ( $P = 0.76$ ) litter size at the time of separation ( $5.5 \pm 0.17$ ; range 1-11 kits). Likewise, there was no significant difference in dam body weight ( $P = 0.43$ ). However, the litter size negatively influenced both the dam weight and body condition ( $P < 0.001$ ) regardless of the separation age. Stereotypies D0-D1 were influenced by group (8 weeks  $> 7$  weeks) and increased with number of kits ( $P < 0.01$ ), indicative of dam hunger/metabolic burden in the preceding period. We found no signs of nipple/inflammation problems, evaluated visually and by Infrared Thermography (IRT) measuring surface temperatures of active teats (83% out of 2042 nipples). Dams separated at litter age 7 weeks had higher concentrations of cortisol metabolites during the first week after removal; i.e. day of separation, D0: 18.8%, D1: 34.5%, D7: 36.9% higher FCM than in 8 weeks dams ( $P = 0.014$ ). Likewise, the dam calls increased on the separation day, peaking on the first day after separation (D1). The proportion of dams with calls was higher in the 7 week group ( $P = 0.024$ ). We interpret these results as a higher maternal motivation in dams at 7 weeks than at 8 weeks after birth. Additionally, the separation-induced calling in dams decreased with increasing litter size ( $P = 0.022$ ). Thus in addition to litter age, the size of the litter is important for the maternal motivation. These factors should, therefore, be taken into account for determining the optimal separation time on mink farms.

**Malmkvist, J., Sørensen, D.D., Larsen, T., Palme, R. & Hansen, S.W., 2016.** The mink dam motivation for maternal care decrease with both litter age and the number of kits. Annual Report 2015, 7-14. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Behaviour, FCM, Mink (*Neovison vison*), Stress, Weaning, Welfare.

## Baggrund

Det optimale tidspunkt for flytning af minktæven fra kuldet afgøres formentlig af en balance mellem tævens og hvalpenes behov. Tidlig flytning eller delvist flytning af kuldet kan være nødvendig, f.eks. for at beskytte minktæven mod stor belastning sidst i diegivningen (Clausen & Larsen, 2015). Effekten på tæverne er ikke velundersøgt, men det forventes, at en rettidig flytning vil reducere hendes belastning. Formålet med nærværende forsøg er at undersøge effekterne af at flytte tæven fra kuldet enten 7 eller 8 uger efter fødslen.

Minktævens yngelpleje inkluderer bl.a. redebygning, diegivning og varme/beskyttelse af hvalpene. Hvalpens egen evne til at opretholde kropstemperaturen er utilstrækkelig de første uger (Harjunpää & Rouvinen-Watt, 2004), og øjenåbning samt de første tegn på høresans forekommer sent, først efter 28 dage (Brandt *et al.*, 2013). Det gradvise skift fra modermælk til farmfoder begynder ved ca. 4 ugers alderen (Brink & Jeppesen, 2005). Hovedparten af tævens mælkeproducerende væv henfalder 6-8 uger efter fødslen (Pinkalski & Møller, 2014), sammenfaldende med at hvalpene i højere grad kan klare sig selv ernæringsmæssigt.

Fravænningen er en gradvis proces og kan i biologien defineres som den fase, hvor moderen mest markant sænker tid/ressourcer brugt på afkommet (Martin, 1984). I daglig tale og i lovgivningen bruges 'fravænning' snarere for det tidspunkt, hvor vi vælger at adskille mor og unger. I Danmark er den tidligste flytning af minktæven fra kuldet fastsat til 8 uger efter fødsel, med mulighed for undtagelser: "§24. stk. 2. Fravænning af hvalpe/unger må tidligst ske, når hvalpene/ungerne er otte uger gamle, medmindre moderens eller hvalpenes/ungernes velfærd er truet på grund af ganske særlige omstændigheder" (BEK,

2016). Der findes imidlertid ikke mange undersøgelser af tævens motivation for yngelpleje i den sidste del af diegivningsperioden.

Tævens motivation for yngelpleje spiller en rolle for tævens velfærd og dermed for den optimale adskillelsesalder. Tæven kan være motiveret for at udføre yngelpleje, men samtidig også fysiologisk belastet og motiveret for at fjerne sig fra de krævende hvalpe sidst i diegivningsperioden. Vi målte styrken af tævens motivation ved at observere tævens adfærd og måle koncentrationen af hormonet cortisol efter adskillelse fra kuldet ved enten 7 eller 8 uger efter fødslen. Yderligere vurderede vi tævens dievorter og målte overfladetemperaturer, da skade og betændelse grundet forlænget ophold med hvalpe kan påvirke tævens velfærd negativt.

## Materiale og metoder

Vi fordelte brune førsteårstæver med kuld ( $n = 374$ ), i en 10-rækket hal på AU-Foulums forsøgsfarm, på to grupper: flytning af tæven fra kuldet ved 7 uger (dag  $49 \pm 1$ ,  $n = 185$ ) eller ved 8 uger (dag  $56 \pm 1$ ,  $n = 189$ ) efter fødslen. Tæverne blev tilfældigt valgt til de to grupper, balanceret indenfor fødselsdato (23/4.- 9/5 2014). Flytningen af tæven skete på ugedage mellem kl. 08.30-10. Tæven blev flyttet til 2-rækket hal, 50-100 m. væk fra hvalpene.

Data blev indsamlet på tæven på flytningsdagen (D0), dagen efter (D1), og syv dage efter flytningen fra kuldet (D7). Dataindsamlingen på tæven inkluderede (1) vejning og vurdering af huld, D0, (2) dievorters antal, aktivitet og sundhed, overfladetemperaturer af dievorter målt ved hjælp af infrarød termovision (IRT), D0, (3) observation af tævens adfærd, D0, D1 og D7, samt (4) måling af cortisol metabolitter i fæces (FCM), D0, D1 og D7. For en detaljeret beskrivelse af

metoder og den statistiske analyse henvises til Malmkvist et al. (submitted).

Den statistiske analyse tog hensyn til afhængige data i form af gentagne målinger over tid (såsom flere målinger på samme tæve D0-D7) og indenfor tæven (såsom temperatur af flere dievorter på samme tæve). Kuldstørrelse ved flytning var inkluderet som covariat. Resultater opgives som gennemsnit  $\pm$  standard error (SE), og grænsen for statistisk signifikans er  $P < 0,05$ .

## Resultater

De to grupper havde den samme kuldstørrelse ( $F_{1, 365} = 0$ ,  $P = 0,76$ ) ved tidspunktet for flytningen af tæven (7 uger:  $5,45 \pm 0,17$ , 8 uger:  $5,53 \pm 0,17$ ; range: 1-11 hvalpe). Kuldets vægt steg markant fra uge 7 til 8 ( $F_{1, 365} = 57$ ,  $P < 0,001$ ; 7 uger:  $3,0 \pm 0,11$  kg vs. 8 uger:  $4,1 \pm 0,11$  kg). Dvs. kullet er i gennemsnit 40 % tungere i uge 8 end i uge 7 med det samme antal hvalpe pr. kuld.

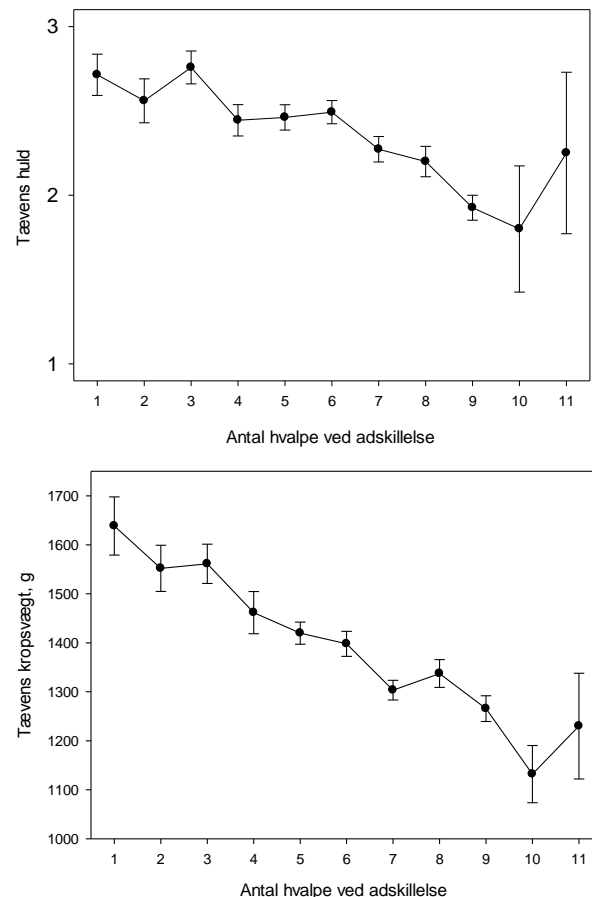
### Tævens huld og vægt

Der var ingen forskel i tævernes vægt ( $F_{1, 340} = 1$ ,  $P = 0,43$ ; 7 uger:  $1420 \pm 15,0$  g, 8 uger:  $1404 \pm 14,7$  g; range: 930-1680 g). Kuldstørrelsen havde en klar negativ effekt ( $P < 0,001$ ) på både tævens vægt og huld (Figur 1), uanset om flytningen var 7 eller 8 uger.

### Dievorter, sundhed og overfladetemperatur

Vi fandt ingen sår eller tegn på betændelse på de 2042 synlige dievorter fra 342 tæver vi vurderede. Af disse var 1704 (83 %) aktive og 9 (0,4 %) blev noteret som 'bidt af' (ikke forskelligt mellem flytningsuger), men var helet/uden sår.

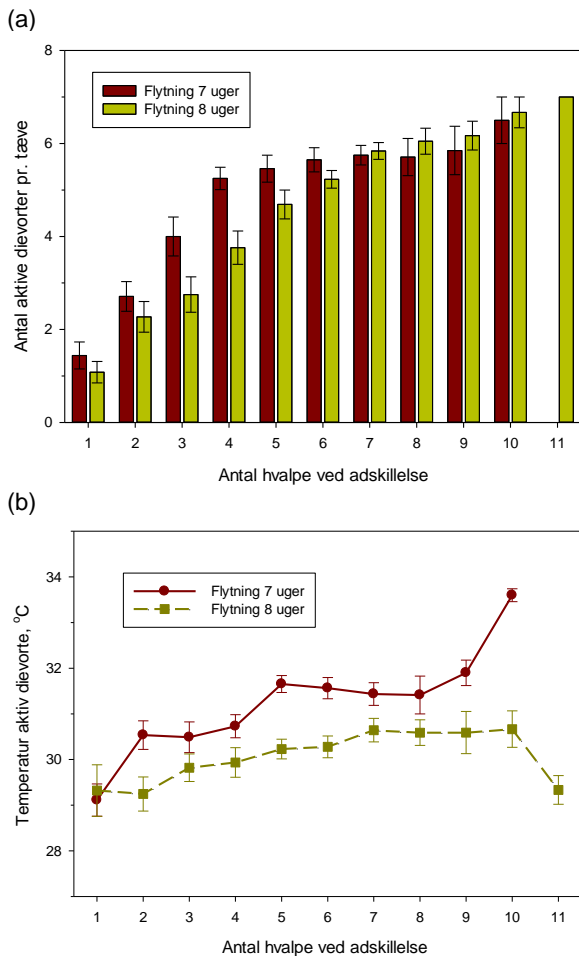
Antallet af aktive dievorter pr. tæve var påvirket af en interaktion mellem flytningsuge og antal hvalpe i kullet ( $F_{1, 353} = 4$ ,  $P = 0,043$ ; Figur 2).



Figur 1. Tævens huld og kropsvægt (gennemsnit  $\pm$  SE) faldt med kuldstørrelsen ( $P < 0,001$ ), men var ikke påvirket af hvorvidt tæven var med kullet for 7 eller 8 uger efter fødslen ( $P = 0,43$ ).

Antallet af aktive dievorter var højere ved 7 uger når kuldstørrelsen var 1-5 hvalpe, mens der ikke var forskel mellem flytningsuger for større kuld ( $> 5$  hvalpe, Figur 2a). Det maksimale antal synlige vorter pr. tæve var 10. Tre tæver med 11 hvalpe, som var i gruppen der blev flyttet efter 8 uger, havde alle 7 aktive dievorter.

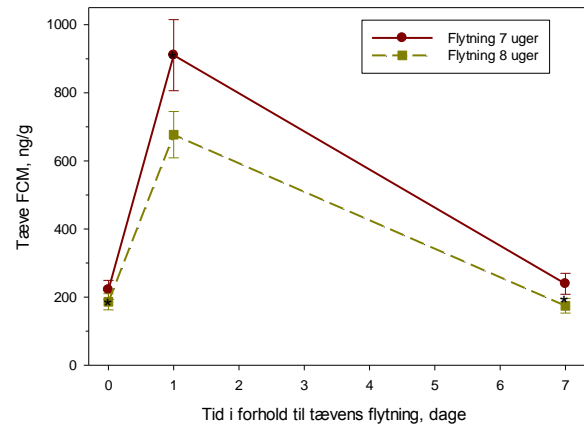
Den maksimale overfladetemperatur af dievorterne var mellem 29,1 og 37,9 °C pr. tæve. Overfladetemperaturen på/omkring aktive dievorter var i gennemsnit 1,2 °C højere hos tæverne ved 7 uger i forhold til ved 8 uger ( $F_{1, 347} = 55$ ,  $P < 0,001$ ), og gennemsnits temperaturen steg med kuldstørrelsen ( $F_{1, 347} = 43$ ,  $P < 0,001$ ; Figur 2b).



Figur 2. (a) antallet aktive diervorter pr. tæve og (b) overfladetemperatur (gennemsnit  $\pm$  SE) målt vha. IRT af et cirkelareal på 300 mm<sup>2</sup> omkring aktive diervorter versus antallet af hvalpe for de to behandlingsgrupper (adskillelse 7 eller 8 uger). Der var en interaktion mellem behandling og kuldstørrelse ( $P = 0,043$ ) mht. antallet af aktive diervorter. Overfladetemperaturen var højere ved 7 end ved 8 uger ( $P < 0,001$ ) og steg med kuldstørrelsen ( $P < 0,001$ ).

### Fæces cortisol metabolitter (FCM)

Figur 3 viser udviklingen i tævens koncentration af cortisol metabolitter (FCM) efter flytningen. Kurvens forløb var ens mellem tæverne ved 7 og 8 uger ( $P = 0,84$ ), med højeste FCM på dagen efter flytning (D1) for begge grupper. Kuldets alder påvirkede tævens cortisol koncentration ( $F_{1, 483} = 6$ ,  $P = 0,014$ ), dvs. tæver flyttet efter 7 uger havde de højeste koncentrationer (D0: +18.8 %, D1: +34.5 %, D7: 36.9 % højere FCM end hos tæver flyttet efter 8 uger).



Figur 3. Koncentration af fæces cortisol metabolitter (FCM) fra tæver flyttet fra kullet ved 7 eller 8 uger efter fødslen, målt på flytningsdagen (D0, baseline koncentration), dagen efter (D1) og en uge efter (D7). Tæver flyttet fra kullet efter 8 uger havde de laveste koncentrationer af FCM ( $P = 0,014$ ).

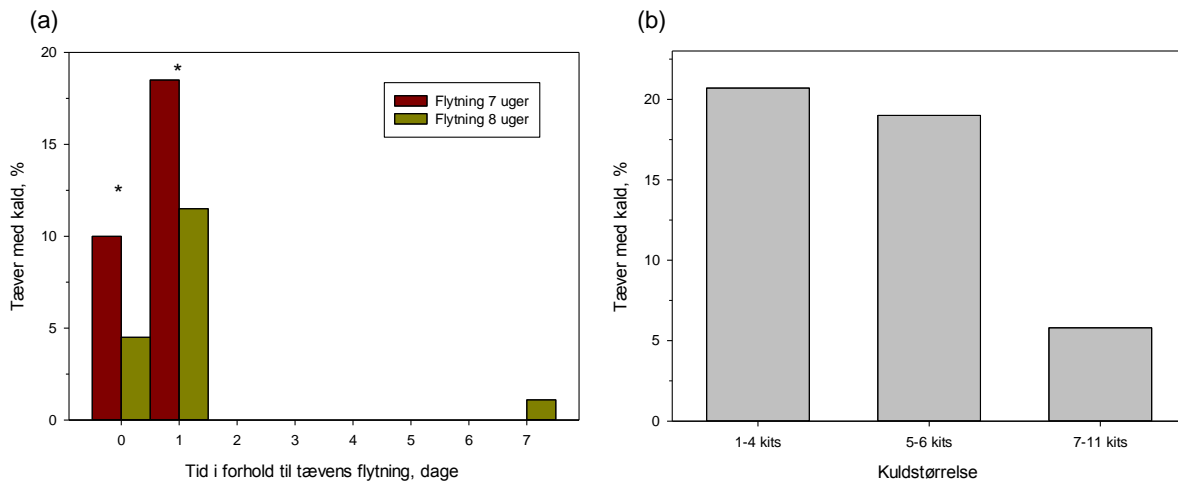
### Tævens adfærd

Efter flytningen var kald efter hvalpe den dominerende (84 %) type af vokaliseringer fra tæven. Andre typer af vokaliseringer forekom sjældent (kurren: 11 %, skrig: 6 %) den første uge. Andelen af tæver som kaldte steg fra D0 til D1 ( $F_{1, 689} = 10$ ,  $P = 0,002$ ) uanset kuldets alder ved flytning (Figur 4a). Syv dage efter flytningen var der næsten igen tæver som kaldte længere. Flytningsalderen påvirkede forekomsten af tæver med kald D0-D1 ( $F_{1, 535} = 5$ ,  $P = 0,024$ ), således at flere tæver flyttet efter 7 uger kaldte efter deres hvalpe (Figur 4a). Jo højere antal hvalpe i kullet desto færre tævekald ( $F_{1, 487} = 5$ ,  $P = 0,022$ ) blev hørt efter flytningen. Dvs. tæverne ser ud til at være mindre motiverede for at komme i kontakt med de store kuld (Figur 4b).

Tæverne blev mindre aktive ude i buret og brugte en stigende del af observationerne i redekassen fra D0 til D7 (effekt af dag, Tabel 1). Der var en tendens ( $P = 0,096$ ) til at 8 ugers tæver var mere aktive end 7 ugers tæver på D7 (Tabel 1). Udviklingen i stereotypier efter flytningen var forskellig mellem de to grupper (interaktion, Tabel 1). Tæver flyttet fra kullet efter 8 uger havde mere stereotypisk adfærd på D0-D1, men mindre på D7. Forekomsten af

stereotypier faldt fra D0 til D1 til D7 i begge grupper (Tabel 1). Både tævens aktivitet ( $P = 0,003$ ) og stereotypisk

adfærd ( $P < 0,001$ ) D0-D7 steg med antallet af hvalpe, der var i kuldet ved flytningen.



Figur 4. (a) Tæver med kald i forhold til flytning fra kuldet ved 7 eller 8 uger. Flere tæver kaldte på D0-D1 efter flytning ved 7 uger i forhold til ved 8 uger efter fødslen ( $P = 0,024$ ). De adskillelses-inducerede kald fra tæverne faldt med kuldstørrelsen ( $P = 0,022$ ), illustreret (b) for den laveste 25 % kvantil (1-4 hvalpe), medianen (5-6 hvalpe) og den højeste 25 % kvantil (7-11 hvalpe) af kuldstørrelserne.

Tabel 1. Tævens adfærd som gennemsnit  $\pm$  SE % af observationerne på adskillelsesdagen (D0), dagen efter (D1) og ugen efter adskillelsen fra kuldet (D7). Behandlingen var flytning fra kuldet 7 eller 8 uger efter fødsel.

	Flytning ved 7 uger			Flytning ved 8 uger			Effekt	Test værdi	P-værdi
	Dag 0	Dag 1	Dag 7	Dag 0	Dag 1	Dag 7			
I redekassen	5,5 $\pm 0,93$	36,2 $\pm 2,43$	60,2 $\pm 2,56$	4,0 $\pm 0,81$	41,1 $\pm 2,70$	59,7 $\pm 2,19$	Behandling Dag	$F_{1,277} = 1$ $F_{1,214} = 597$	0,37 < 0,001
Aktiv	86,5 $\pm 1,31$	51,6 $\pm 2,32$	25,7 $\pm 1,43$	89,4 $\pm 1,31$	50,9 $\pm 2,37$	32,3 $\pm 1,34$	Behandling Dag Kuldstørrelse	$F_{1,320} = 3$ $F_{1,241} = 1681$ $F_{1,326} = 9$	0,096 < 0,001 0,003
Stereotypisk adfærd	37,6 $\pm 2,29$	24,2 $\pm 2,07$	7,0 $\pm 1,08$	47,3 $\pm 2,32$	31,0 $\pm 2,29$	4,5 $\pm 0,88$	Behandling* Dag Kuldstørrelse	$F_{1,369} = 12$ $F_{1,342} = 13$	0,005 0,004
Pelspleje	1,1 $\pm 0,34$	0	1,6 $\pm 0,50$	0,3 $\pm 0,24$	0,5 $\pm 0,26$	2,5 $\pm 0,60$	NA	NA	NA

Summen af alle adfærds kategorier kan overskride 100 % såfremt mink udviser mere end en type af adfærd under observationen. NA: statistisk analyse ikke muligt pga. for få observationer/fordeling af data.

## Diskussion

Vi fandt en højere motivation for yngelpleje hos minktæver ved 7 uger end ved 8 uger efter fødslen, idet tidligt flyttede tæver havde flere kald og højere stresshormonkoncentrationer efter flytning fra kuldet. Desuden kaldte færre tæver dagene efter flytning, såfremt kuldet var på 7 hvalpe eller flere, hvilket tyder på en lavere motivation hos tæven for at blive genforenet med større kuld i den sene del af diegivningsperioden.

Hvalpenes gradvise fravænnning fra mælk blev vist via det lavere antal af dievorter som var aktive, kombineret med en lavere

overfladetemperatur omkring aktive dievorter ved 8 uger i forhold til ved 7 uger. Den lavere overfladetemperatur ved 8 uger kan være grundet hvalpenes nedsatte sutteaktivitet samt nedsat blodgennemstrømning til tævernes mælkeproducerende væv. Dette er i overensstemmelse med en undersøgelse, der viste at den gennemsnitlige mængde af kirtelvæv blev reduceret fra ca. 40-45 g i uge 4, til omkring 10 g i uge 7, og blot 5 g i uge 8 efter fødslen (Pinkalski & Møller, 2014). I overensstemmelse hermed fandt vi kun få tegn på øget stress og udmattelse hos tæver, som blev sammen med kuldet i 8 fremfor i

7 uger. Baseline FCM var lavere hos tæver flyttet ved 8 uger, huld/kropsvægt var ikke påvirket, og der var ingen tegn på problemer med betændelse eller lignende. Dermed støtter vores resultater praksis og lovgivningen med at vente til 8 uger med at flytte tæven fra kuldet. Tidligere flytning af tæven øger hendes stressreaktion og giver flere kald.

Kuldets alder er imidlertid ikke den eneste betydende faktor mht. det optimale tidspunkt for flytning af tæven. Kuldstørrelsen påvirkede også flere nøgleindikatorer: (1) tæver med store kuld havde nedsat yngelplejemotivation vist gennem færre kald efter hvalpe efter adskillelsen, (2) tævens huld og kropsvægt faldt med kuldstørrelse snarere end med kuldets alder, samt (3) tæve med større kuld havde mest stereotypisk adfærd.

Dette er i overensstemmelse med flere undersøgelser, der viser, at i den sene del af diegivningsperiode kan tæven med fordel tildeles en hævet hylde i buret (Hansen, 1990; Dobson & Rouvinen-Watt, 2008; Dawson *et al.*, 2013). Tæver bruger disse hylder i stigende grad med kuldets alder indtil ca. 6 uger, efterfulgt af formindsket brug ved 8 uger, formentlig fordi ældre hvalpe i stigende grad kan bruge hylden, og dermed mindskes værdien som et 'sikkert sted' for tæven (Hansen, 1990). Ligeledes bruger tæver med store kuld hylderne mere (kun fulgt de første 6 uger i Buob *et al.*, 2013). Samlet set giver større kuld en øget mobilisering af tævens kropsreserver og nedsætter hendes motivation for yngelpleje i den sidste del af diegivningsperioden som vist ved 7 og 8 uger i nærværende undersøgelse.

Undersøgelser har tidligere koblet stereotypier med sult hos mink (Hansen *et al.*, 1994; Vinke *et al.*, 2002; Hansen & Møller, 2008). Mængden af stereotypisk adfærd stiger i en periode med restriktiv

fodring, selvom denne unormale adfærd kan dæmpes ved mere struktur i det daglige farmfoder (Malmkvist *et al.*, 2013). Stereotypi er også sammenfaldende med nedsat kropsvægt (Jeppesen *et al.*, 2004; Damgaard *et al.*, 2004, Hansen & Møller, 2008) og en højere cortisol koncentration (Malmkvist *et al.*, 2011) hos minktæver. I forsøget blev mink udelukkende fodret på redekasselåget fra 4 uger efter fødsel. Tæven kan derfor muligvis opleve foderkonkurrence med hvalpene, i stigende grad med alder og antal hvalpe i kuldet – til trods for at en fodringsintensitet tæt på ad libitum blev tilstræbt. Undersøgelsens lige store kuld var i gennemsnit 40 % tungere i uge 8 end i uge 7, hvilket afspejler en betragtelig stigning i hvalpenes foderindtagelse og dermed potentiale for konkurrence om foder mellem burfæller fra uge 7 til 8. Til støtte for denne antagelse observerede vi mere stereotypisk adfærd (D0-D1) hos 8 ugers end hos 7 ugers tæver, og at den unormale adfærd også steg med kuldstørrelsen. Syv dage efter adskillelsen – når tæven går og fodres alene i eget bur – falder mængden af stereotypier til 4,5-7 % af observationerne (D7 i Tabel 1). Hansen (1990) fandt ydermere, at stereotypier havde højst forekomst hen imod slutningen af 8 uger efter fødslen hos tæver, som stadig gik med deres hvalpe. Vi konkluderer derfor, at årsagen til højere stereotypisk adfærd hos 8 ugers tæver afspejler, at de har oplevet mere sult i den foregående periode med kuldet – snarere end at adfærden skyldes en højere motivation for at blive genforenet med kuldet.

Hos pattedyr overstiger antallet af dievorter typisk antallet af unger i kuldet (Gilbert, 1986). Hos produktionsdyr selekteret for kuldstørrelse ses imidlertid øget hyppighed af flere unger end antallet af dievorter, tydeligst i griseproduktionen (gns. 16,8 grise født pr. kuld, so: 12-14 patter; Vinter, 2013) og i mindre grad hos

mink (Figur 2). Fokus på og måling af tævernes helbred pga. den øgede kuldbelastning er derfor vigtigt. Infrarød termografi (IRT) er tidligere brugt til at måle overfladetemperaturer i relation til søers helbred (Soerensen & Pedersen, 2015). Ligeledes har en canadisk undersøgelse (Dawson *et al.*, 2014) antydnet at minktæver med hylde kan have mindre sandsynlighed for hævede, røde og/eller skorpedækkede dievorter samt forhøjede overfladetemperaturer 6 uger efter fødsel, uden det dog er muligt at foretage sikre konklusioner grundet en usystematisk/mindre valid brug af IRT. Fremtidens brug af termovision til at vurdere dievorte-sundhed afhænger af valide metoder, og vi har for første gang præsenteret hvordan metoden systematisk og standardiseret kan bruges til at måle overfladetemperaturer omkring dievorter hos mink (Malmkvist *et al.*, submitted).

### **Konklusion**

Minktævens yngelplejemotivation falder med kuldets alder fra uge 7 til 8 samt med kuldstørrelsen. Forekomsten af kald efter hvalpe og FCM koncentrationen var højest hos de tidligt flyttede tæver efter adskillelsen. Kald efter hvalpe efter adskillelsen faldt desuden med kuldstørrelsen. Stereotypier hos flyttede tæverne kan afspejle sult/metabolsk belastning inden adskillelsen fra kuldet. Vi brugte for første gang infrarød termografi (IRT) systematisk til en standardiseret måling af dievorternes overfladetemperatur, uden at finde tegn på nedsat sundhed eller forhøjede temperaturer når tæven går 8 uger med hele kuldet.

### **Anerkendelse**

Tak til Jens Clausen og Carsten Berthelsen samt til minkfarmens personale og Birthe Houbak for innovation og hjælp ved dataindsamling. Projektet modtog midler fra Pelsdyrafgiftsfonden og København Fur ("Flere vitale minkhvalpe ved

fravænning") samt fra GUDP, NaturErhvervstyrelsen, Fødevareministeriet ("Management til forbedret hvalpeoverlevelse, dyrevelfærd og effektivitet i dansk minkproduktion").

### **Referencer**

BEK. 2006. Bekendtgørelse om beskyttelse af pelsdyr, BEK nr. 1734, Fødevareministeriet.

Brandt, C., Malmkvist, J., Nielsen, R. L., Brande-Lavridsen, N. & Surlykke, A. 2013. Development of vocalization and hearing in American mink (Neovison vison). *J. Exp. Biol.* 216, 3542-3550.

Brink, A. L. & Jeppesen, L. L. 2005. Behaviour of mink kits and dams (*Mustela vison*) in the lactation period. *Can. J. Anim. Sci.* 85, 7-12.

Buob, M., Meagher, R., Dawson, L., Palme, R., Haley, D. & Mason, G. 2013. Providing 'get-away bunks' and other enrichments to primiparous adult female mink improves their reproductive productivity. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 147, 194-204.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F. 2015. Partial weaning at six weeks of age reduces biting among mink kits (*Neovison vison*). *Open J. Anim. Sci.* 5, 71-76.

Damgaard, B. M., Hansen, S. W., Børsting, C. F. & Møller, S. H. 2004. Effects of different feeding strategies during the winter period on behaviour and performance in mink females (*Mustela vison*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 89, 163-180.

Dawson, L., Buob, M., Haley, D., Miller, S., Stryker, J., Quinton, M. & Mason, G. 2013. Providing elevated 'getaway bunks' to nursing mink dams improves their health and welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 147, 224-234.



- Dobson, J. & Rouvinen-Watt, K. 2008. Seasonal body weight, body condition score, blood glucose and stress levels of female mink (*Neovision vison*) with or without access to resting bunks. *Scientifur* 32, 184-185.
- Gilbert, A. N. 1986. Mammary number and litter size in Rodentia: the "one-half rule". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 4828-4830.
- Hansen, S. W. 1990. Activity pattern of lactating mink and the effect of water trays or wire netting cylinder in mink cages. *Scientifur* 14, 187-193.
- Hansen, S. W., Hansen, B. K. & Berg, P. 1994. The effect of cage environment on the circadian rhythm, behaviour and feed intake of farm mink. *Acta Agric. Scand. Sec. A. Anim. Sci.* 44, 120-127.
- Hansen, S. W. & Møller, S. H. 2008. Diurnal activity patterns of farm mink (*Mustela vison*) subjected to different feeding routines. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111, 146-157.
- Harjunpää, S. & Rouvinen-Watt, K. 2004. The development of homeothermy in mink (*Mustela vison*). *Comp. Biochem. Physiol. A* 137, 339-348.
- Jeppesen, L. L., Heller, K. E. & Dalsgaard, T. 2000. Effects of early weaning and housing conditions on the development of stereotypies in farmed mink. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 68, 85-92.
- Jeppesen, L. L., Heller, K. E. & Bildsøe, M. 2004. Stereotypies in female mink (*Mustela vison*) may be genetically transmitted and associated with higher fertility due to effects on body weight. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 86, 137-143.
- Malmkvist, J., Jeppesen, L. L. & Palme, R. 2011. Stress and stereotypic behaviour in mink (*Mustela vison*): A focus on adrenocortical activity. *Stress* 14, 312-323.
- Malmkvist, J., Palme, R., Svendsen, P. M. & Hansen, S. W. 2013. Additional foraging elements reduce abnormal behaviour – fur-chewing and stereotypic behaviour – in farmed mink (*Neovision vison*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 149, 77-86.
- Malmkvist, J., Sørensen, D. D., Larsen, T., Palme, R. & Hansen, S. W. (submitted). Weaning and separation stress: Maternal motivation decreases with both litter age and litter size in farmed mink.
- Martin, P. 1984. The meaning of weaning. *Anim. Behav.* 32, 1257-1259.
- Pinkalski, M. N. & Møller, S. H. 2014. Høj mælkeproduktion i længere tid hvis tæver fodres efter ædelyst fra fødsel, p. 22-27, DCA report no. 45, National Centre for Food and Agriculture, Aarhus University, Denmark.
- Soerensen, D. D. & Pedersen, L. J. 2015. Infrared skin temperature measurements for monitoring health in pigs: a review. *Acta Vet. Scand.* 57: 5. DOI 10.1186/s13028-015-0094-2.
- Vinke, C. M., Eenkhoorn, N. C., Netto, W. J., Fermont, P. C. J. & Spruijt, B. M. 2002. Stereotypic behaviour and tail biting in farmed mink (*Mustela vison*) in a new housing system. *Anim. Welf.* 11, 231-245.
- Vinther, J. 2013. Landsgennemsnit for produktivitet i svineproduktionen 2012. Notat nr. 1314, Videnscenter for Svineproduktion, <http://vsp.lf.dk/Publikationer/Kilder/Notater/2013/1314.aspx> assessed 25 Nov 2015.

# Det er muligt at udtage en repræsentativ stikprøve af dyr ud fra antallet af bure med mink i hver hal

Anna F. Marsbøll, Britt I.F. Henriksen & Steen H. Møller

Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Allé 20, DK-8830 Tjele, Danmark

E-mail: anna.marsboll@anis.au.dk

## Sammendrag

Indenfor den samme farm kan velfærden variere mellem grupper af dyr pga. management eller rent biologiske årsager. Derfor forsøger man i WelFur-Mink at udtage en stikprøve, som er repræsentativ for farmen i relation til en række faktorer. Den hidtidige metode kræver dog en del informationer om dyrene og deres omgivelser, som det ikke altid er muligt at få på forhånd. Derfor har vi udviklet en ny stikprøveudtagningsmetode, der udelukkende baseres på antallet af bure med mink i hver hal på farmen. Formålet med dette studie var at undersøge, om den nye metode giver en stikprøve, som er repræsentativ for farmen, samt betydningen af den rækkefølge, som hallerne gennemgås i. Det blev undersøgt med udgangspunkt i en farm med knap 42.000 bure med mink, hvor udtagningen af 300 stikprøver ved den nye metode blev simuleret. Resultaterne viste, at det er muligt at udtage en stikprøve som afspejler farmens reelle fordeling ud fra antallet af bure med mink i hver hal på farmen. Hal-rækkefølgen forventes kun at have en begrænset betydning, hvis haller der ligner hinanden, gennemgås efter hinanden.

**Marsbøll, A.F., Henriksen, B.I.F. & Møller, S.H. 2016.** Det er muligt at udtage en repræsentativ stikprøve af dyr ud fra antallet af bure med mink i hver hal. Faglig Årsberetning 2015, 15-23. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

The welfare may vary between groups of animals within the same farm due to management or biological reasons. The welfare assessment in WelFur-Mink is therefore based on a sample that is representative for the animals on the farm in relation to a number of factors. The present sampling method requires a lot of information about the animals and their environment, which it is not always possible to get beforehand. We therefore developed a new sampling method, which is only based on the number of cages in use in each shed on the farm. The purpose of this study was to examine whether the new method provides a sample that is representative of the animals on the farm, and the importance of the order in which sheds are summarised in. This was examined based on a farm with almost 42,000 cages, where the sampling of 300 samples using the new method was simulated. The results showed that it is possible to use the new method to select a sample that reflects the actual distribution on the farm. The order of the sheds is expected to have only a limited impact if similar sheds are summarised consecutively.

**Marsbøll, A.F., Henriksen, B.I.F. & Møller, S.H. 2016.** It is possible to take a representative sample of animals based on the number of cages in use in each shed. Annual Report 2015, 15-23. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** WelFur, mink, sampling, welfare assessment, stratification

## Indledning

I velfærdsvurderingsprotokollen WelFur-Mink vurderes minks velfærd på farmniveau ud fra en stikprøve på 120 bure (20 sektioner á 6 bure) i vinter- og diegivningsperioden og 90 bure (15 sektioner á 6 bure) i vækstperioden (Møller *et al.* 2015). Velfærden for dyrene i stikprøven ses som et estimat for den "sande" tilstand på hele farmen. Inden for hver enkelt farm kan dyrenes miljø variere, ofte systematisk, mellem haller eller typer af haller. For eksempel kan der

være forskellige redekasser og burtyper, hvilket kan give en variation i velfærden mellem hallerne. I praksis kan grupper af dyr også være underlagt forskellig management, f.eks. forskellige fodringsstrategier, hvorved velfærden kan variere mellem grupperne (Møller 1992; Hansen & Møller 2013).

Der kan også være velfærds-mæssige forskelle mellem dyregrupper af rent biologiske årsager. Man har blandt andet vist, at gamle tæver generelt har større

vægttab end unge tæver gennem laktationen (Hansen & Berg 1998), hvorved velfærden kan variere med tævernes alder. Farvetyper kan også spille ind på både produktion, reproduktion og adfærd. For eksempel har mink med aluetian (aa) genet, som blandt andre kan give farvetyperne safir og violet, et nedsat immunforsvar. Man har også vist, at sorte mink er mere frygtsomme end pastel mink (Meagher *et al.* 2011). Der er derfor gode grunde til at udtage en stikprøve, der er repræsentativ for dyrene på farmen i relation til de faktorer, der kan påvirke dyrenes velfærd.

For at sikre en repræsentativ stikprøve i WelFur-Mink anvendes der stratificering (dvs. stikprøveudtagning på baggrund af en inddeling af populationen i mindre dele). Stratificering vil ofte give en større præcision end et tilfældigt udvalg af dyr fra den samlede population, da man er sikker på at få de betydende faktorer repræsenteret i stikprøven. I WelFur-Mink stratificeres der på baggrund af dyrenes køn, alder og farvetype i vinter- og diegivningsperioden, og social indhusning, køn, alder og farvetype i vækstperioden. Herudover tages der også hensyn til om dyrene er indhuset i forskellige typer haller, bure, redekasser, samt om der er forskellige vandings-systemer på farmen (Møller *et al.* 2015). For at lave stratificeringen er der brug for en række informationer om dyrene og deres omgivelser. Dette er tidskrævende, og i nogle situationer er det ikke muligt at få de nødvendige informationer. Selv hvis alle oplysninger kan skaffes, kan stratificeringen også være tidskrævende. Det kan være særligt udfordrende i vækstperioden, hvor dyrene kan være indhuset på mange forskellige måder, og det er vanskeligt at udpege en stikprøve, der er repræsentativ både med hensyn til indhusningen af dyrene og de øvrige forhold. Endelig er der risiko for en ubevidst skævvridning af stikprøven, idet det er den enkelte observatør, der står for

at udvælge sektionerne ud fra den indledende stratificering.

Vi har derfor udviklet en mere simpel metode til stikprøveudtagning, som på en objektiv måde udtager en stikprøve, der repræsenterer forholdene på den enkelte farm. Metoden er udelukkende baseret på antallet af bure med mink i hver hal på farmen og angiver hvor mange sektioner i hver hal, der skal udtages til stikprøven. Avleren kan ofte oplyse antallet af anvendte bure i hver hal eller observatøren kan selv estimere antallet ved en gennemgang af farmen. Referenceantallet, som er det samlede antal bure med mink på farmen divideret med antallet af sektioner i stikprøven, angiver hvor mange bure med mink, der skal være i en hal, før der skal udtages en sektion. Hal for hal summeres antallet af bure med mink, og når referenceantallet nås, skal der udtages en sektion i den pågældende hal. I de haller, hvor der skal udtages en eller flere sektioner, laves der en tilfældig udvælgelse indenfor hver hal. Nogle haller indeholder for få bure med dyr til at der skal udtages en sektion, mens der udtages flere sektioner i andre haller. Herved bliver sektionerne i stikprøven fordelt over hele farmen på baggrund af antallet af bure med mink i hver hal. Til den rent praktiske anvendelse har vi udviklet et regneark hvor antallet af bure med mink i hver hal testes ind. Regnearket beregner hvor mange sektioner, der skal udtages i hver hal, og angiver hvilke tilfældigt udvalgte sektionsnumre, der skal indgå i stikprøven. I WelFur-Mink består hver enkelt sektion i stikprøven altid af seks bure, selv om en sektion reelt kan bestå af et varierende antal bure, idet den fysiske opdeling i sektioner på farmene kan variere. I praksis udvælges en sektion på baggrund af den fysiske opdeling af burene i sektioner, og hvis den udvalgte sektion f.eks. består af syv bure, undlades et af burene.

Idet sektionerne i stikprøven fordeles blandt farmens haller, sikres det, at stikprøven ikke baseres på en enkelt hal, som det kunne være tilfældet med en ren tilfældig udvælgelse. Minkfarme er ofte bygget i etaper, hvor indhusningen er mere ensartet i de haller, som er bygget i samme etape. Derfor vil de fleste farme bestå af flere ensartede enheder. Ofte vil minkene også sidde samlet efter farvetyper, køn, social indhusning og evt. alder. Stikprøvens fordeling blandt farmens haller skal sikre, at stikprøven stratificeres med hensyn til den fysiske indretning af farmen (f.eks. udformningen af bure og redekasser) og dyr (f.eks. farvetype og køn), der ofte forekommer mere ens indenfor haller end mellem haller. Da antallet af bure med mink summeres hal for hal indtil referenceantallet nås, kan fordelingen af sektionerne mellem hallerne afhænge af den rækkefølge, som hallerne gennemgås i. Formålet med dette studie var derfor at undersøge, om den nye stikprøveudtagningsmetode giver en stikprøve, som er repræsentativ for farmen, samt betydningen af den rækkefølge, som hallerne gennemgås i. Vores forventning var, at den nye stikprøveudtagningsmetode giver en stikprøve, som er repræsentativ for farmen, og at hallernes rækkefølge har en forudsigelig, og dermed håndterbar, effekt på hvor repræsentativ stikprøven bliver.

### **Materiale og metoder**

For at udfordre den udviklede metode til stikprøveudtagning blev den testet i vækstperioden, hvor der er flest faktorer at tage hensyn til i stratificeringen i WelFur-Mink. Der blev udviklet en modelfarm til formålet. For at sikre en realistisk fordeling tog modelfarmen udgangspunkt i en privat dansk minkfarm med 23 haller og knap 42.000 burrum. Farmen blev besøgt i oktober 2015 og optegnet ved at alle bure blev beskrevet sektionsvist ud fra en række faktorer

(halnummer, rækkenummer, sektionsnummer, bure per sektion, antal dyr per bur, dyrenes køn, alder og farvetype, social indhusning, burtype, burets skillerum, redekassens isoleringsevne og redekassen position).

Udtagelsen af en række stikprøver på modelfarmen via den nye stikprøveudtagningsmetode blev simuleret. Ved udtagningen af sektionerne via den nye stikprøveudtagningsmetode blev antallet af anvendte bure i hver hal først gjort op. To haller blev delt op i to selvstændige "haller". Den ene hal, fordi den fysisk var opdelt i to dele. Den anden, fordi to ud af fem rækker blev benyttet som sygeafdeling. Modelfarmen bestod dermed af 25 haller. Antallet af anvendte bure i hver hal blev summeret på baggrund af tre forskellige hal-rækkefølger. En af rækkefølgerne fulgte den eksisterende nummerering på farmen, og de to andre var rækkefølger, som ville være naturlige at følge, hvis man ikke kendte den eksisterende nummerering. For hver hal-rækkefølge blev der udregnet hvor mange sektioner, der skulle udtages i hvilke haller. Der blev udarbejdet et program for hver hal-rækkefølge, som lavede en tilfældig udvælgelse af de 15 sektioner inden for de respektive haller. Der blev udtaget 100 stikprøver på baggrund af hver hal-rækkefølge.

Fordelingen af dyrene indenfor en række faktorer, som er inkluderet i stratificeringen i WelFur-Mink, blev udregnet for den komplette modelfarm (den reelle fordeling) og for de 3x100 stikprøver, som blev udtaget via den nye stikprøveudtagningsmetode. Dette inkluderede dyrenes køn og alder (unge dyr/avlssdyr), social indhusning (individuel/par/grupper) samt farvetype (brun, mahogany, sort, pearl, hvid, cross, silver, palomino og andre farver/blandet). Sekundært blev fordelingen af dyrene i haller af forskellige størrelser (to-rækket/multi-rækket), burtype (standard/ gruppe), burenes

skillerum (tråd/solidt), redekassens placering (normal/top/ingen) og redekassens isoleringsevne (lav/ mellem/høj) inkluderet. Overensstemmelsen mellem stikprøverne udtaget med den nye stikprøveudtagningsmetode og den reelle fordeling blev evalueret ud fra stikprøvernes median, maksimum og minimum eller vha. en række violin-plots. Plottene viser stikprøvernes fordeling. Des bredere plot, des flere stikprøver er faldet ud med en fordeling inden for det angivne område. Al programmering og beskrivende statistik blev foretaget i R (R Core Team 2015).

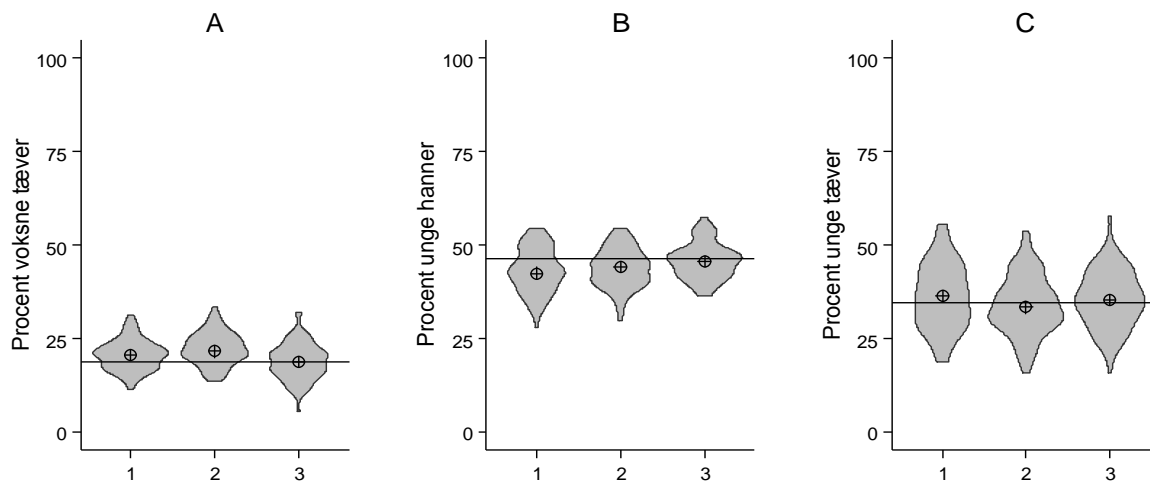
## Resultater

Hallerne på modelfarmen havde forskellig størrelse, og antallet af anvendte bure per hal varierede fra 500 til 6800 bure. Der var voksne tæver og unge dyr i forholdet 1:5 og der var flere forskellige farvetyper på modelfarmen. I enkelte haller var der kun dyr i ét stadie (f.eks. goldtæver) eller én farvetype. I andre haller var der dyr i flere stadier (f.eks. voksne tæver og ungdyr) indhuset i forskellige

kombinationer (f.eks. en voksen tæve sammen med en ung han eller en ung tæve sammen med en ung han), og der kunne også være flere forskellige farvetyper i den samme hal.

På baggrund af de tre forskellige hal-rækkefølger blev der udtaget sektioner i 12, 13 eller 14 forskellige haller. I 18 haller udtog de tre hal-rækkefølger det samme antal sektioner (0 eller 1) i hver hal. I de sidste syv haller blev der på baggrund af de tre forskellige hal-rækkefølger udtaget et forskelligt antal sektioner, (0, 1, 2 eller 3) i hver hal. Antallet af dyr i stikprøvernes 15 sektioner varierede fra 186 dyr til 228 dyr.

Fordelingen af dyrene i stikprøverne med hensyn til køn og alder var ensartet for alle tre hal-rækkefølger (Figur 1). Stikprøverne var centreret omkring modelfarmens reelle fordeling med den højeste tæthed omkring medianen. Der var den største variation i andelen af unge tæver i stikprøverne (Figur 1C).



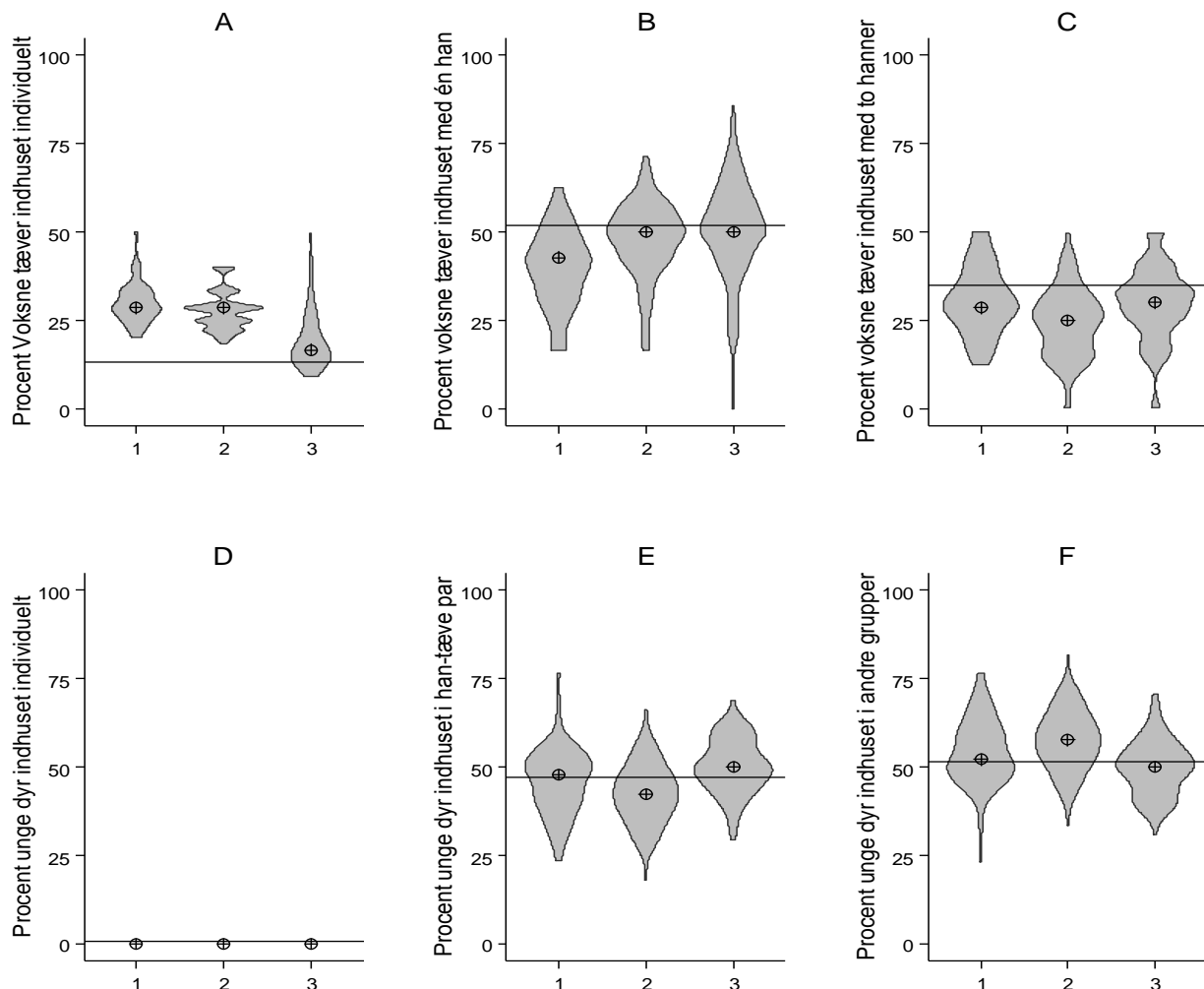
Figur 1. Fordelingen af dyrene i stikprøverne mht. alder og køn. A) Procent voksne tæver, B) Procent unge hanner, C) Procent unge tæver. Den vandrette streg viser modelfarmens reelle fordeling og cirklen angiver medianen for de 100 stikprøver, som er udtaget for hver hal-rækkefølge (1, 2, 3)

De voksne tæver var indhuset alene (13 %) eller sammen med en eller to unge hanner (52 % og 35 %). Uanset hal-rækkefølgen var andelen af voksne tæver indhuset alene højere i stikprøverne end det reelt var på modelfarmen, dog med

nogen variation mellem de tre hal-rækkefølger (Figur 2A). Det modsatte billede var gældende for andelen af voksne tæver indhuset med én eller to unge hanner, hvor andelen var lavere end det reelt var på modelfarmen i de fleste

stikprøver (Figur 2B og 2C). Kun i få tilfælde var unge dyr indhuset alene (1 %), ellers var de indhuset i han-tæve par (47 %) eller i andre gruppekombinationer (52 %). Uanset hal-rækkefølgen kom ingen af de få individuelt indhusede ungdyr med i stikprøverne (Figur 2D). Andelen af unge dyr i stikprøverne, som var indhuset i han-tæve par, var ensartet

for de tre hal-rækkefølger og centreret omkring modellarmens reelle fordeling (Figur 2E). Det samme billede var gældende for andelen unge dyr indhuset i andre grupper (Figur 2F). For alle faktorerne relateret til indhusning gjaldt det, at der var den højeste tæthed omkring stikprøvenes median.



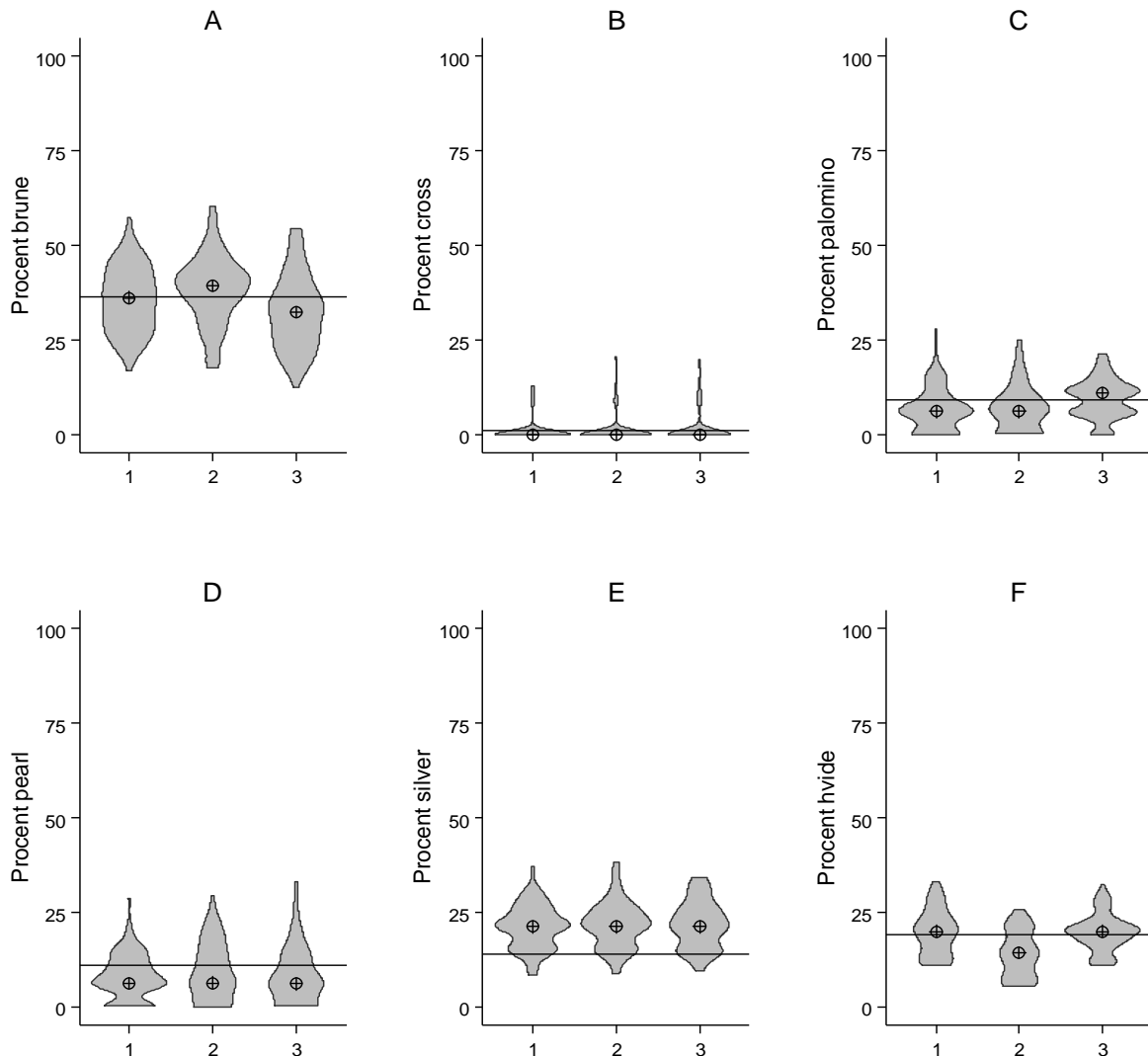
**Figur 2.** Fordelingen af dyrene i stikprøverne mht. social indhusning. A) Procent voksne tæver indhuset individuelt, B) procent voksne tæver indhuset med én han, C) Procent voksne tæver indhuset med to hanner, D) procent unge dyr indhuset individuelt, E) procent unge dyr indhuset i han-tæve par, F) procent unge dyr indhuset i andre grupper end han-tæve par. Den vandrette streg viser modellarmens reelle fordeling og cirklen angiver medianen for de 100 stikprøver, som er udtaget for hver hal-rækkefølge (1, 2, 3).

Der var flest brune mink på modellarmen (37 %). Fordelingen af andelen af brune mink i stikprøven var ensartet for de tre hal-rækkefølger og centreret omkring modellarmens reelle fordeling. Sammenlignet med de andre farvetyper var der den største variation i andelen af brune mink i stikprøverne (Figur 3A). Der var en

lav forekomst af mink med farvetyperne cross på modellarmen (1 %). Uanset halrækkefølgen var der i de fleste stikprøver ingen eller kun få mink med farvetyperne cross, og i enkelte stikprøver op til 21 % (Figur 3B). Andelen af mink på modellarmen i farvetyperne palomino, pearl, silver og hvid var på henholdsvis

9 %, 11 %, 14 % og 19 %. For disse farvetyper var der en ensartet variation, som for farvetyperne palomino (Figur 3C) og hvid (Figur 3F) var fordelt forskelligt alt efter hal-rækkefølgen. Andelen af mink i

farvetyperne pearl (Figur 3D) og silver (Figur 3E) var for størstedelen af stikprøverne henholdsvis under eller over modelfarmens reelle værdi.



**Figur 3.** Fordelingen af dyrene i stikprøverne mht. farvetype. A) Procent brune, B) Procent cross, C) Procent palomino, D) Procent pearl, E) Procent silver, F) Procent hvide. Den vandrette streg viser modelfarmens reelle fordeling og cirklen angiver medianen for de 100 stikprøver, som er udtaget for hver hal-rækkefølge (1, 2, 3).

For alle faktorerne relateret til farvetype gjaldt det, at der var den højeste tæthed omkring stikprøvernes median. Dog var der for enkelte hal-rækkefølger og farvetyper tendens til bimodalitet, hvor stikprøverne fordeler sig i to grupper. Dette ses f.eks. i figur 3C, hal-rækkefølge 3, hvor stikprøverne er centreret omkring to værdier, som falder henholdsvis over og under modelfarmens reelle værdi.

Burtypen, redekassens placering og isoleringsevne samt typen af skillerum varierede både indenfor- og mellem hallerne. Uanset hal-rækkefølgen var andelen af mink indhuset i standardbur lavere i størstedelen af stikprøverne (hal-rækkefølge, median [max;min]: 1) 55[43;71], 2) 55[43;71], 3) 54[43;72]) end det var på modelfarmen (67 %). Resten af minkene var indhuset i gruppebure (33 %). Derved var andelen af mink indhuset i gruppebure højere i

størstedelen af stikprøverne end det reelt var på modelfarmen. Uanset hal-rækkefølgen var andelen af mink indhuset i bure med faste skillerum lavere i størstedelen af stikprøverne (hal-rækkefølge, median [max;min]: 1) 49[46;61], 2) 48[46;59], 3) 47[44;61]) end det reelt var på modelfarmen (56 %). Resten af minkene var indhuset i bure med trådskillerum (44 %). Derved var andelen af mink i bure med trådskillerum højere i størstedelen af stikprøverne end det reelt var på modelfarmen.

Langt de fleste mink på modelfarmen havde adgang til en redekasse med den normale placering for enden af buret (96 %). Andelen af dyr i stikprøverne, som havde adgang til en redekasse med den normale placering, var centreret omkring modelfarmens reelle fordeling, med en begrænset variation for alle tre hal-rækkefølger (hal-rækkefølge, median [max;min]: 1) 97 [88;97], 2) 97 [90;97], 3) 97 [91;100]). Da resten af minkene havde adgang til en redekasse som var placeret i toppen af buret (4 %), var fordelingen af stikprøverne tilsvarende ovenstående fordeling. Næsten alle mink på modelfarmen havde adgang til en redekasse med en høj (56 %) eller mellem (43 %) isoleringsevne. 1 % havde adgang til en redekasse med en lav isoleringsevne. Uanset hal-rækkefølgen var der ikke nogen dyr med adgang til en redekasse med en lav isoleringsevne i stikprøverne. Andelen af dyr i stikprøverne, som havde adgang til en redekasse med en høj isoleringsevne, var centreret omkring modelfarmens reelle fordeling (hal-rækkefølge, median [max;min]: 1) 58 [45;71], 2) 59 [41;71], 3) 65 [48;78]). Da resten af minkene havde adgang til en redekasse med mellem isoleringsevne (43 %), var fordelingen af stikprøverne tilsvarende ovenstående fordeling.

Størstedelen af minkene på modelfarmen var indhuset i haller med flere end to rækker (89 %). Alle stikprøverne havde

en fordeling som var tæt på modelfarmens fordeling med en meget lille variation (hal-rækkefølge, median [max;min]: 1) 88 [87;89], 2) 88 [87;89], 3) 91 [90;91]). Da resten af minkene var indhuset i to-rækkede haller (11 %), var fordelingen af stikprøverne tilsvarende den ovenstående fordeling.

## **Diskussion**

Idet der kun skal udtages én stikprøve per farm, skal den med en vis nøjagtighed repræsentere farmen. De simulerede stikprøver følger modelfarmens reelle fordeling, men der er nogen variation i hvor nøjagtigt de afspejler den reelle fordeling. I de fleste tilfælde var stikprøverne fordelt omkring modelfarmens reelle fordeling. I andre tilfælde var stikprøverne forskubbet en smule, hvilket blandt andet var tydeligt for burtypen, hvor andelen af mink indhuset i gruppebure var højere i størstedelen af stikprøverne, end det reelt var på modelfarmen. Dette kan skyldes, at den indledende fordeling af sektionerne mellem hallerne, har givet en skævvridning, sådan at sandsynligheden for at udtage en sektion med mink indhuset i gruppebure ikke reflekterer den reelle sandsynlighed på modelfarmen. Formålet med en stikprøve er at give et repræsentativt billede af farmen uden at skulle undersøge hele farmen. Da hver sektion i stikprøven udgør 6,7 % af den samlede stikprøve vil det kun i sjældne tilfælde være muligt at få en helt nøjagtig repræsentation af dyrene og deres omgivelser i stikprøven. Dette er imidlertid det kompromis, der muliggør, at det kan lade sig gøre at kigge på de faktorer, der siger mest om dyrenes velfærd, med et realistisk tidsforbrug.

De primære parametre der stratificeres efter i vækstperioden i WelFur-Mink er køn, alder, social indhusning samt farvetype og sekundært dyrenes omgivelser. Idet den nye stikprøveudtagningsmetode først fordeler sektionerne mellem



hallerne, var det forventeligt, at der kun var en lille variation mellem stikprøverne inden for de faktorer, som har med dyrenes omgivelser at gøre. Dette var særligt tydeligt for haltypen og redekassens placering, hvor alle stikprøverne med en høj nøjagtighed repræsenterede modelfarmens reelle fordeling. Derimod var der en større variation mellem stikprøverne inden for de faktorer, som havde med dyrenes køn, alder, social indhusning og farvetype at gøre, hvilket kan skyldes, at der var mange forskellige muligheder for at kombinere disse faktorer inden for hver enkelt hal. Des mere systematisk dyrene er sat op inden for hver enkelt hal, og des færre mulige kombinationer der kan udtages tilfældigt indenfor en hal, des større er sandsynligheden også for at stikprøven repræsenterer forholdene på farmen. Derfor vil nøjagtigheden, hvormed en stikprøve repræsenterer farmens reelle forhold, variere mellem farme, alt efter graden af systematik og antallet af kombinationsmuligheder. Modelfarmen i dette studie havde flere forskellige kombinationsmuligheder end man typisk ser på andre private farme. Vi vil derfor forvente, at stikprøver udtaget med denne metode på andre private farme, vil repræsentere farmenes reelle fordeling med den samme eller en endnu højere nøjagtighed end i dette studie.

Ved den nye stikprøveudtagningsmetode vil man altid udtage én sektion i haller, hvor antallet af anvendte bure er over referenceantallet. I haller, hvor antallet af anvendte bure er væsentligt over referenceantallet, vil det variere om man skal udtage mere end én sektion per hal, og hvor antallet af anvendte bure er mere end dobbelt så stort som referenceantallet, varierer det ligeledes om man skal udtage to eller tre sektioner. Hvis antallet af anvendte bure er lavere end referenceantallet, er det afhængig af rækkefølgen, om der skal udtages en sektion fra den pågældende hal eller ej. I

alle tilfælde afhænger det af hvor mange bure, der var i anvendelse i den eller de foregåede haller, idet der opsummeres indtil referenceantallet nås næste gang. Derfor kan den rækkefølge hvormed hallerne gennemgås i, påvirke hvilke haller der udtages. Dette forklarer, hvorfor antallet af sektioner, der skulle udtages i de forskellige haller, varierede mellem de tre hal-rækkefølger.

I dette studie var der kun en begrænset variation i hvor mange sektioner, der blev udtaget i hvilke haller, mellem de tre hal-rækkefølger. Uanset hal-rækkefølgen, blev haller der lignede hinanden, altid summeret efter hinanden (f.eks. seks 2-rækkede haller eller fire 4-rækkede haller), mens det varierede om hallerne i en gruppe blev gennemgået fra den ene eller den anden ende, samt hvilken rækkefølge de forskellige hal-grupper blev gennemgået i. Hvis hallerne var blevet gennemgået i en ren tilfældig rækkefølge, vil der have været en større variation i hvor mange sektioner, der blev udtaget i hvilke haller. Her vil der dog også være en større risiko for, at der slet ikke blev udtaget sektioner i de små haller, hvor antallet af anvendte bure er under referenceantallet, idet hallerne summeres indtil referenceantallet nås. Hvis hallernes rækkefølge er tilfældig, vil det også være tilfældigt om f.eks. de 2-rækkede haller vil være placeret lige der i rækkefølgen, hvor referenceantallet nås. Derimod, når de 2-rækkede haller summeres i forlængelse af hinanden, vil man altid udtage en sektion deri, hvis der samlet set er flere bure med mindst end referenceantallet. Dette vil også være den naturlige fremgangsmåde på langt de fleste farme, pga. den systematiske opbygning, og er også pointeret i beskrivelsen af stikprøveudtagningsmetoden.

Ved at sektionerne i stikprøven først fordeles blandt farmens haller, sikres det, at stikprøven ikke baseres på en enkelt

hal eller den samme slags haller, hvori dyrene og deres omgivelser ofte vil være mere identiske. Der er dog en risiko for at en systematisk variation på farmen kan falde sammen med systematikken i udtagelsen af sektionerne. F.eks. kan man nå frem til, at der skal udtages en sektion i hver anden hal på en farm, hvor avleren har valgt at have den samme type dyr i hver anden hal. Herved vil denne type dyr blive overrepræsenteret i stikprøven. Dette kan dog omgås ved at ændre en smule i den rækkefølge hvori hallerne summeres i, når systematikken opdages.

### **Konklusion**

Som forventet er det muligt at udtage en repræsentativ stikprøve ud fra antallet af bure med mink på farmen. Dog vil der mellem stikprøver være nogen variation i hvor nøjagtigt stikprøverne afspejler farmenes reelle fordeling. Den rækkefølge som hallerne gennemgås i, vurderes kun at have en begrænset betydning, hvis haller der ligner hinanden, altid gennemgås efter hinanden. En stikprøve udtaget efter den nye metode, baseret på antallet af bure med mink i hver hal, giver en god repræsentation af de faktorer, der stratificeres efter ved en velfærdsvurdering.

### **Referencer**

Hansen, B.K. & Berg, P. 1998. Mink dam weight changes during the lactation period. I. Genetic and environmental effects. Acta Agriculturae Scandinavica. Section A. Animal Science, 48, 49-57

Hansen, S.W. & Møller, S.H. 2013. Risikoen for sår og skader øges når mink holdes i grupper. I: Faglig Årsberetning 2012. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter. 177-181

Meagher R.K., Duncan I., Bechard A., Mason G.J. 2011. Who's afraid of the big bad glove? Testing for fear and its correlates in mink. Applied Animal Behaviour Science, 133, 254-264

Møller, S.H. 1992. Produktionssystemer og produktionsstyring på danske minkfarme. 708 Beretning fra Statens Husdyrbrugsforsøg. 173

Møller, S.H., Hansen, S.W., Malmkvist, J., Vinke, C.M., Lidfors, L., Gaborit, M., Botreau, R. 2015. WelFur - Welfare assessment protocol for mink. 2. udgave. Fur Europe, Brussels, Belgium. [www.fureurope.eu](http://www.fureurope.eu)

R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>



# Udvikling af metode til at screene minktævers urin for at bestemme drægtighed

Mette Skou Hedemann

Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Alle 20, Postboks 50, 8830 Tjele

## Sammendrag

Formålet med denne undersøgelse var at undersøge, hvorvidt det er muligt at identificere golde minktæver tidligt i drægtigheden vha. ikke-måltrettet metabolomicsanalyse af urinprøver. Der blev indsamlet urinprøver på en minkfarm den 24. marts, 8. og 15. april 2015. Tidspunktet for indsamlingerne blev lagt således, at det skønnedes at være før implantation og tidligt i drægtigheden. Der blev indsamlet i alt 97 urinprøver fra 58 tæver. Urinprøverne blev analyseret vha. væskechromatografi-massespektrometri og data blev analyseret vha. mønstergenkendelsesmetoder (PCA). Der var en fin adskillelse mellem prøverne fra de tre opsamlingsdage, men da der kun var 5 golde minktæver, kunne disse ikke danne en gruppe, som klart adskilte sig fra de drægtige tæver. Adskillelsen mellem opsamlingsdagene viste, at der var ændringer i mængden eller sammensætningen af de stoffer, som minkene udskilte i urinen i den analyserede periode. Identifikation af en del af disse metabolitter viste, at der skete ændringer i oxidationen af fedtsyrer, i omsætningen af protein og/eller aminosyrer samt i udskillelsen af vitaminer.

**Hedemann, M.S. 2016.** Udvikling af metode til at screene minktævers urin for at bestemme drægtighed. Faglig Årsberetning 2015, 25-31. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

The aim of the present study was to investigate whether it is possible to identify barren female mink on basis of a non-targeted metabolomics analysis of urine samples. Urine samples were collected on a commercial farm on March 24 and April 8 and 15, 2015. The samples were collected during what was expected to be early pregnancy. A total of 97 samples were collected from 58 female mink. The urine samples were analyzed with liquid chromatography-mass spectrometry and data were analyzed using pattern recognition methods (principal components analysis). There was a clear separation between collection days, however only 5 female mink were barren and these didn't form a group clearly separated from the pregnant females. The separation between the sampling days showed that there were changes in the amount or composition of the metabolites excreted in the urine during the period investigated. Identification of a part of the metabolites showed that the oxidation of fatty acids as well as protein and/or amino acid metabolism was changed. Furthermore, changes in the excretion of some vitamins were observed.

**Hedemann, M.S. 2016.** Development of a method to screen the urine of female mink to determine pregnancy. Annual Report 2015, 25-31. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** Mink, *Neovison vison*, metabolomics, pregnancy, barren females

## Baggrund

Golde minktæver er et problem af meget varierende omfang. Goldprocenten på landsbasis og for samtlige farvetyper var i 2014 på 9,08 % i Danmark. I forbindelse med forsøg med mink er der blevet rapporteret fra ca. 8 % golde tæver i et dansk studie (Malmkvist *et al.*, 1997) helt op til 25 % i et finsk studie (Nieminen *et al.*, 2010). Golde minktæver kan, når fødslerne er overstået, pelses med dårlig skindkvalitet til følge eller flyttes og fodres indtil pelsning med deraf følgende

udgifter til foder. Hvis golde minktæver kan opdages tidligt, vil det være muligt at pelse dem, mens de endnu er i vinterpels og dermed opnå en god pris for skindet og spare foderudgifter.

Det er forsøgt at identificere golde mink på baggrund af individuelle foderregistreringer, idet det er vist, at der er markant forskel i foderoptagelsen hos drægtige og ikke parrede tæver, men pga. stor spredning i dyrenes foderoptagelse var det ikke muligt (Sønderup og Clausen,

2005). En anden mulighed for at identificere gølge tæver er at analysere progesteronindholdet i en blodprøve. Progesteronindholdet begynder at stige ca. 40 dage før tæverne føder og maksimum koncentrationen ses i begyndelsen af april når implantationen finder sted. Det har dog vist sig at progesteronindholdet i blodet stiger hos parrede tæver uanset om der opnås drægtighed eller ej (Clausen, 1987), og det er dermed ikke en pålidelig markør for drægtighed.

Screening af urinprøver er et endnu ikke afprøvet alternativ. Metabolomics er en objektiv analyse af biologiske prøver, hvor man søger at afdække forskelle i prøverne uden at være forudindtaget. Det er vist, hos mennesker, at graviditet medfører forskelle i sammensætningen af metabolitter i urinen (Diaz *et al.*, 2013), bl.a. fordi der under graviditeten sker en markant forøgelse af udskillelsen af næringsstoffer (metabolitter) i urinen (Hyttén, 1973). Hos mennesker har metoden potentiale til tidlig diagnose af problemer i graviditeten såsom graviditetssukkersyge og svangerskabsforgiftning (Sachse *et al.*, 2012). Hos kvinder ses der meget stor variation i næringsstofomsætningen som følge af de forskellige betingelser før graviditeten, genetiske forskelle og livsstil (King, 2000). Mink på en farm er genetisk meget ens i forhold til en population af kvinder, og da deres foder er ens, og de bliver fodret med tilnærmet ens mængde, reduceres variationen væsentligt. Dette øger sandsynligheden for, at det vha. en metabolomicsanalyse af urin er muligt, på en simpel måde, at identificere ikke drægtige minktæver inden skiftet fra vinter- til sommerpels.

Formålet med dette studie var således at undersøge urinprøver fra minktæver indsamlet på forskellige tidspunkter efter parring med væskechromatografi-massespektrometribaseret metabolomics

(LC-MS) for at undersøge, om vi kunne identificere de ikke-drægtige minktæver.

## Materialer og metoder

### Dyr

Urinprøverne blev indsamlet hos Lund Mink i Sunds. Der blev indsamlet prøver den 24. marts, den 8. april og den 15. april 2015. Datoerne blev valgt med henblik på at have en tidlig prøve før æggene var implanteret (24. marts), en prøve på et tidspunkt, hvor de fleste æg kunne forventes at være implanteret (8. april) og en prøve på et tidspunkt, som antages at være det seneste, hvor tæverne kan pelses med god pelskvalitet (15. april). Dette var samtidig det tidspunkt, hvor minktæverne blev flyttet før fødsel.

Dyrene blev i hele perioden fodret med standardfoder fra Holstebro Mink-fodercentral. Foderets sammensætning ændredes ikke væsentligt i løbet af forsøgsperioden.

Der blev indsamlet urinprøver fra minktæver af farvetyperne brun og pearl. Urinprøverne blev indsamlet som spoturinprøver. Prøverne blev indsamlet ved at tæverne blev fanget og holdt ud over kanten på buret. Mange mink tisser spontant, når de bliver jaget ud at redekassen og fanget. Urinen blev opsamlet i et plastbæger og herefter fordelt i rør og frosset med det samme.

Da alle mink, som indgik i denne undersøgelse, havde født, blev det gjort op hvilke mink der havde været gølge (ikke havde født).

### Prøveforberedelse og analyse

Urinprøverne blev fortyndet med vand (90 µl urin + 90 µl vand) og der blev tilsat acetonitril (20 µl) med intern standard (Glycocholic acid (Glycine-<sup>13</sup>C) og p-chlorophenylalanine). Herefter blev prøverne centrifugeret og supernatanten blev overført til vials og injiceret på

HPLC (ultra high performance liquid chromatography, Ultimate 3000, Dionex). HPLC'en er koblet til et massespektrometer (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen), som detekterer positive eller negative ioner efter prøven er blevet ioniseret ved elektropray ionisering. En detaljeret beskrivelse af metoden findes i (Hedemann and Damgaard, 2012).

### Databehandling

Data analyseres vha. Principal Component Analyse (PCA), som er en avanceret mønstergenkendelsesmetode. Ved at bruge denne metode kan man identificere eventuelle grupperinger, der indikerer forskelle i metabolitmønstret, og metabolitterne, som har størst betydning for grupperingen, kan identificeres. Herefter er de metabolitter, hvor der findes en kommerciel standard, blevet endeligt identificeret ved at analysere standarden under samme betingelser som prøven og sammenligne resultaterne.

## Resultater og diskussion

### Prøveindsamling og avlsresultat

Der blev indsamlet i alt 97 urinprøver. Fordelingen af prøverne på opsamlingsdag og farvetype ses i Tabel 1.

**Tabel 1. Urinprøver indsamlet til analyse.**

Dato	Farvetype	Antal prøver
24. marts	Brun	19
	Pearl	13
8. april	Brun	19
	Pearl	12
15. april	Brun	22
	Pearl	12

Prøverne blev indsamlet fra i alt 58 forskellige tæver, dvs. fra nogle tæver har vi prøver fra en dag, mens vi har fra 2 eller 3 dage fra andre.

I maj blev det optalt, hvor mange af de minktæver, som vi havde fået prøver fra,

der havde fået hvalpe, og resultatet ses i Tabel 2. Goldprocenten blandt minktæverne i forsøget var en smule højere end goldprocenten på landsplan i 2015 (8,95 %).

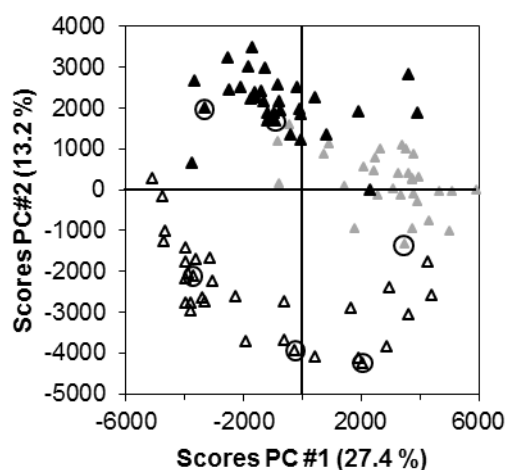
**Tabel 2. Avlsresultatet for minktæver i forsøg**

	Drægtige	Golde	Ukendt*	Goldprocent
Brun	30	3	0	9,1
Pearl	20	2	3	9,1
I alt	50	5	3	9,1

\*Døde efter sidste opsamlingsdag og deres status er dermed ukendt. Disse dyr er ikke medtaget i beregningen af goldprocent.

### Metabolomics analyse af urinprøver

Analysen af urinprøverne viste at der er en tydelig opsplitning mellem de tre prøvesamlingsdage (Figur 1).



**Figur 1. PCA scoresplot for urinprøver indsamlet den 24. marts (åbne trekanter), 8. april (grå trekanter) og 15. april (sorte trekanter). Der er analyseret positive ioner i prøverne. De golde tæver er markeret med en cirkel.**

Den klare opsplitning mellem prøverne fra de tre dage viser, at der sker ændringer i mængden eller sammensætningen af de stoffer, som minkene udskiller i urinen. Prøverne fra den 24. marts er spredt over det største område, og det betyder, at der er større variation mellem disse prøver end mellem prøverne fra den 8. og 15. april, som ligger tættere sammen.

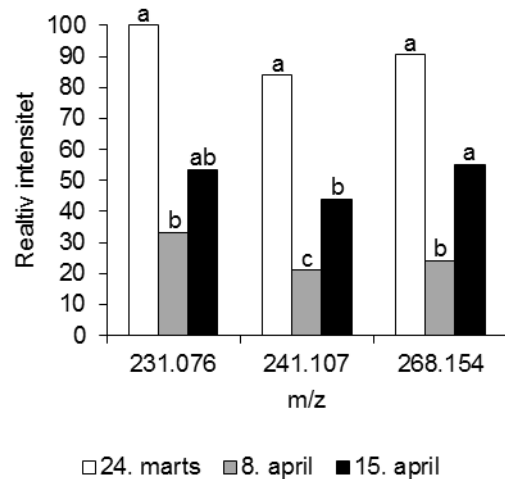
Desværre er antallet af golde tæver for lavt til, at det er muligt at se et mønster i deres placering og dermed finde

markører for goldhed. At tæverne ikke fik hvalpe er ikke ensbetydende med, at de ikke har været drægtige på prøvetagningsdagene, de kan have aborteret/reabsorberet fostrene i perioden indtil begyndelsen af maj. Hvis man skulle have været sikker på at tæverne var golde, skulle de have været aflivet og undersøgt for arvæv på livmodervæggen (Hammer *et al.*, 2008).

Den meget tydelige adskillelse mellem de tre opsamlingsdage viser, at der sker store ændringer i udskillelsen af metabolitter i urinen i løbet af den første del af drægtigheden, og de mest betydende metabolitter for disse forskelle er blevet identificeret.

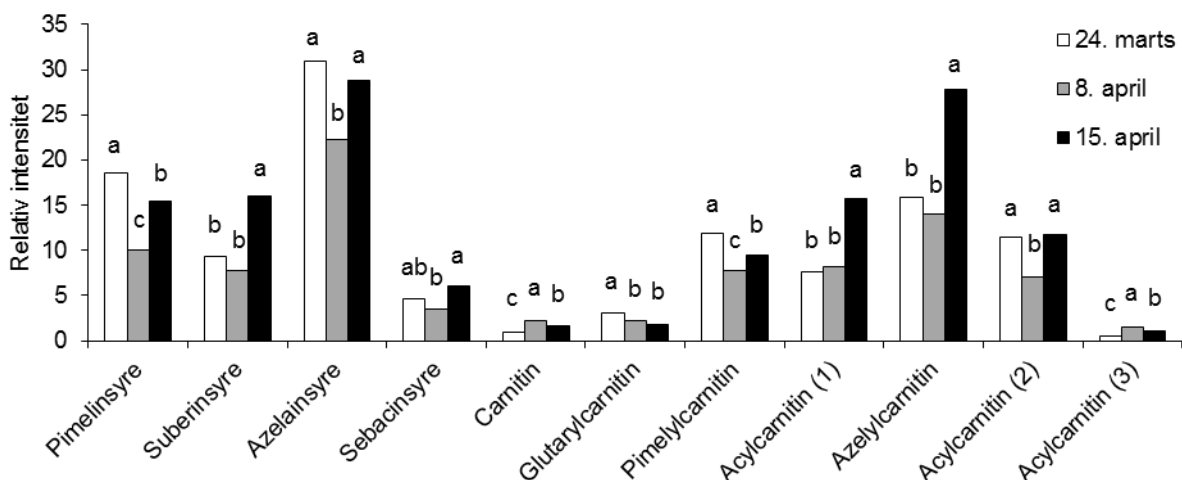
I figur 2 ses den relative intensitet af de tre mest dominerende toppe i kromatogrammerne. Disse toppe er alle uidentificerede. Deres placering sent i kromatogrammet, samt andre karakteristika, antyder, at der er tale om metabolitter af fedttypen, men det har endnu ikke været muligt at indkredse dette nærmere. Metabolitterne viser alle et karakteristisk mønster med en høj udskillelse den 24. marts, der sker et drastisk fald frem til den 8. april ( $P < 0.01$ ), hvorefter udskillelsen stiger igen, og for to af metabolitterne er der ikke

statistisk sikker forskel på udskillelsen den 24. marts og den 15. april. Metabolitterne er tilsyneladende karakteristiske for minkurin. En foreløbig søgning efter de samme metabolitter i human-, rotte- og griseurin viste, at de ikke er til stede eller er til stede i meget lavere koncentrationer hos disse dyrearter.



Figur 2. Den relative intensitet af 3 uidentificerede toppe med masse-ladningsforhold på hhv. 231.076, 241.107 og 268.154 i urin fra mink opsamlet den 24. marts og den 8. og 15. april. Intensiteten af toppen 231.076 den 24. marts er sat til 100 og intensiteten af alle øvrige toppe er beregnet i forhold til denne.

I figur 3 ses intensiteten af en række dicarboxylsyrer, frit carnitin og acylcarnitiner på de tre opsamlingsdage.

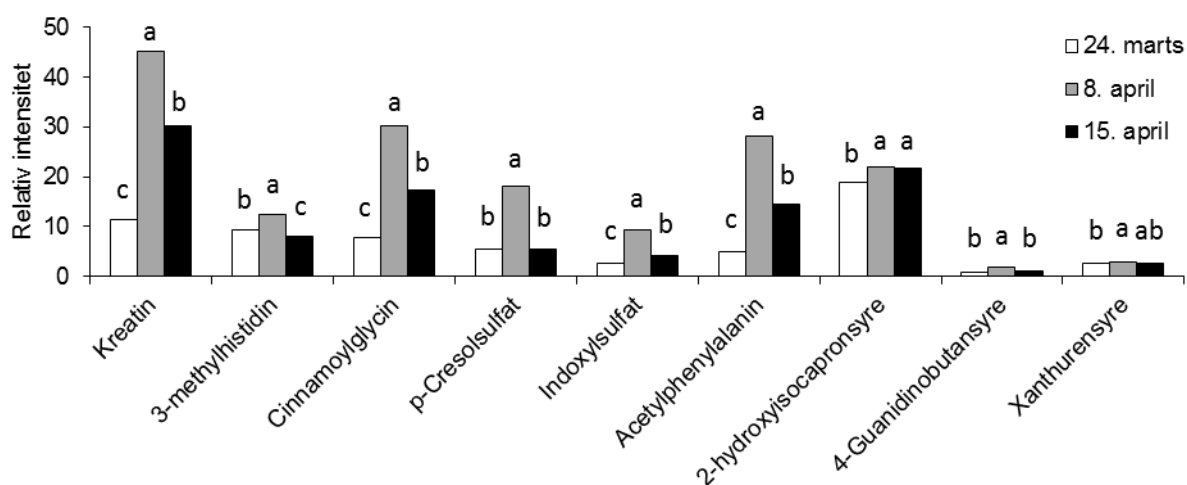


Figur 3. Den relative intensitet af dicarboxylsyrer, frit carnitin og acylcarnitiner i urin fra mink opsamlet den 24. marts og den 8. og 15. april. Acylcarnitin (1):  $C_{16}H_{27}NO_6$ , Acylcarnitin (2):  $C_{17}H_{29}NO_6$ , Acylcarnitin (3):  $C_{21}H_{41}NO_6$ . Den relative intensitet er beregnet i forhold til den mest intense top i kromatogrammet som beskrevet i Figur 2.

I lighed med de tre uidentificerede metabolitter ses også for dicarboxylsyrer og acylcarnitiner et fald i udskillelsen i urinen fra den 24. marts til den 8. april, hvorefter udskillelsen vender tilbage til udgangsniveauet i løbet af den næste uge. Ændringer i udskillelsen af dicarboxylsyrer er udtryk for at der sker ændringer i  $\beta$ -oxidationen, dvs. i omsætningen af fedtsyrer. Udskillelsen af frit carnitin stiger fra den 24. marts til den 8. april, hvilket sandsynligvis hænger sammen med den lavere udskillelse af

acylcarnitin på dette tidspunkt. Carnitin spiller en vigtig rolle i energiforsyningen ved at kontrollere transporten af langkædede fedtsyrer til mitochondrierne. Ændringerne, som ses i dette studie, kan betyde, at der sker en stigning i behovet for energi i form af oxidation af fedtsyrer i den tidlige drægtighed, og at der derfor bliver udskilt færre acylcarnitiner.

Den relative intensitet i urinprøverne af en række metabolitter fra proteinomsætningen ses i figur 4.

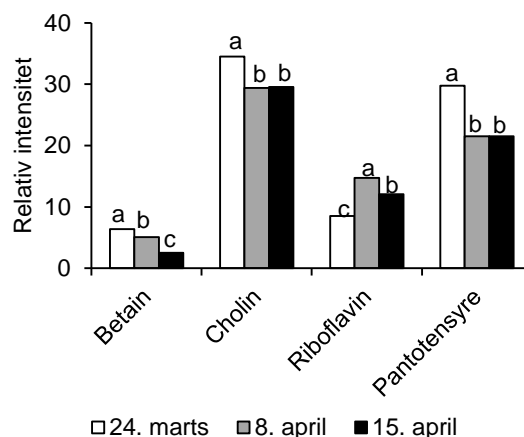


Figur 4. Den relative intensitet af en række metabolitter i proteinomsætningen i urin fra mink opsamlet den 24. marts og den 8. og 15. april. Den relative intensitet er beregnet i forhold til den meste intense top i kromatogrammet som beskrevet i Figur 2.

Udskillelsen i urinen af alle de målte proteinmetabolitter steg fra den 24. marts til den 8. april. For de fleste metabolitter skete et fald i udskillelsen fra den 8. til den 15. april, men dog til et niveau som lå højere end den 24. marts.

Udskillelse af kreatin og 3-methylhistidin er begge et udtryk for nedbrydning af muskelprotein. Cinnamoylglycin og acetylphenylalanin er produkter fra nedbrydningen af phenylalanin. P-cresolsulfat er en bakterielle metabolit, som er meget almindelig i urin. Indoxylsulfat og xanthurensyre er metabolitter af aminosyren tryptophan. 2-hydroxyisocaproinsyre er endeproduktet i leucinomsætningen og 4-guanidinobutansyre er en metabolit i argininomsætningen. Den højere udskillelse af proteinmetabolitter

den 8. april viser, at der sker en større omsætning af protein og aminosyrer.



Figur 5. Den relative udskillelse af betain, cholin, riboflavin og pantotensyre i urin fra mink opsamlet den 24. marts og den 8. og 15. april. Den relative intensitet er beregnet i forhold til den meste intense top i kromatogrammet som beskrevet i Figur 2.



Udskillelsen af betain, cholin og pantotensyre i urinen var højest den 24. marts. Cholin er specielt vigtigt under drægtigheden og cholin overføres fra moderen til fostrene, derfor er den lavere udskillelse af cholin den 8. og 15. april ikke overraskende. Betainomsætningen er nært forbundet med omsætningen af cholin, derfor er det heller ikke overraskende at udskillelsen af betain falder. Pantotensyre er nødvendig, når kroppen omdanner kulhydrater og fedtsyrer til energi, og da der sker ændringer i  $\beta$ -oxidationen, er det en naturlig følge, at der bliver mere brug for pantotensyre og udskillelsen dermed falder. Udskillelsen af riboflavin steg fra den 24. marts til den 8. april og faldt igen frem til den 15. april. Riboflavin udskilles kontinuert i urinen, og den øgede udskillelse betyder derfor, at der enten har været ændringer i indtaget, hvilket ikke er sandsynligt, eller ændringer i forbruget. Riboflavin er en vigtig bestanddel i to forskellige coenzym, som indgår i en række enzymsystemer, der er nødvendige for kroppens celler, når der skal omsættes energi. Vitaminet er derfor vigtigt i omsætningen af især protein, men også fedt og kulhydrater. Det er derfor overraskende, at udskillelsen af riboflavin stiger samtidig med at omsætningen af protein stiger.

Tæverne i dette forsøg fik hvalpe mellem den 27. april og den 6. maj, dvs. implantationen har fundet sted mellem den 28. marts og den 6. april. Dvs. ingen af tæverne var drægtige da prøverne blev indsamlet den 24. marts, da alle æg stadig var i svømmefasen, mens de alle tæver, der fik hvalpe, var drægtige den 8. april. Resultaterne af dette studie viser, at der sker meget store ændringer i næringsstofomsætningen i den tidlige drægtighed, hvilket sandsynligvis er et udtryk for, at implantationen og den tidlige drægtighed er meget energikrævende.

## Konklusion og perspektivering

Det overordnede formål med dette studie var at undersøge, om man ved at bruge ikke-måltrettet (non-targeted) metabolomics kunne identificere golde minktæver. Da antallet af golde tæver var lavt (5 golde ud af 55 parrede tæver), var det ikke muligt vha. mønstergenkendelse på analysen af urinprøverne at udpege de golde tæver. Desuden er der den usikkerhed ved studiet, at man ikke ved om de 5 tæver, som ikke fik hvalpe, har været golde eller om de har aborteret fostrene. Dette kunne have været fastslået, hvis vi havde aflivet de golde tæver og undersøgt dem for forekomst af arvæv på livmodervæggen.

Undersøgelsen viste, at der skete meget store ændringer i udskillelsen af metabolitter i urinen i perioden fra før implantation til ca. 14 dage efter implantation. Ændringerne tyder på, at der et øget/ændret behov for energi i denne periode, da der både ses ændringer i  $\beta$ -oxidationen af fedtsyrer og i omsætningen af protein/aminosyrer. Det kunne være af interesse at analysere flere prøver i perioden lige omkring implantation. Derved kan man måske komme nærmere præcist, hvornår implantationen finder sted, og det vil være muligt at belyse om der f.eks. er vitaminer, som kortvarigt er i underskud i denne periode.

Det kan ikke på baggrund af dette studie udelukkes, at det er muligt at identificere golde tæver vha. metabolomics. Det kræver dog at der gennemføres forsøg, hvor en del af minktæverne parres med sterile hanner for at sikre, at der er en tilstrækkelig stor gruppe af golde tæver.

## Referencer

Clausen, T.N. 1988. Undersøgelse af progesteronindholdet i blodet hos drægtige og ikke drægtige minktæver. Faglig Årsberetning 1987, 101-105. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Diaz, S.O., Barros, A.S., Goodfellow, B.J., Duarte, I.F., Carreira, I.M., Galhano, E., Pita, C., Almeida, M.D., Gil, A.M., 2013. Following Healthy Pregnancy by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Metabolic Profiling of Human Urine. Journal of Proteome Research 12, 969-979.

Hammer, A.S., Hammer-Jensen, T., Sørensen, C.M., Clausen, T. 2008. Evaluering af farvningsmetoder til kvantificering af placentale ar hos farmmink (*Mustela vison*). Faglig Årsrapport 2007, 77-80. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Hedemann, M.S., Damgaard, B.M., 2012. Metabolomic study of plasma from female mink (*Neovison vison*) with low and high residual feed intake during restrictive and ad libitum feeding. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics 7, 322-327.

Hytten, F.E., 1973. Renal Excretion of Nutrients in Pregnancy. Postgraduate Medical Journal 49, 625-629.

King, J.C., 2000. Physiology of pregnancy and nutrient metabolism. The American Journal of Clinical Nutrition 71, 1218s-1225s.

Malmkvist, J., Houbak, B., Hansen, S.W., 1997. Mating time and litter size in farm mink selected for confident or timid behaviour. Animal Science 65, 521-525.

Nieminen, P., Polonen, I., Mustonen, A.M., 2010. Increased reproductive success in the white American mink (*Neovison vison*) with chronic dietary beta-sitosterol supplement. Animal Reproduction Science 119, 287-292.

Sachse, D., Sletner, L., Morkrid, K., Jenum, A.K., Birkeland, K.I., Rise, F., Piehler, A.P., Berg, J.P., 2012. Metabolic Changes in Urine during and after Pregnancy in a Large, Multiethnic Population-Based Cohort Study of Gestational Diabetes. Plos One 7.

Sønderup, M. and Clausen, T.N. 2005. Individuel foderregistrering i drægtighedsperioden, som middel til at frasortere ikke drægtige minktæver (*Mustela vison*) – indledende undersøgelser. Faglig Årsberetning 2002, 229-233. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.



# Fodring i diegivningsperioden hos brune mink

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

Formålet med undersøgelsen var at se, hvorvidt forskellige fodringsstrategier af tæver og hvalpe i dieperioden havde gavnlig effekt på mælkeproduktionen og hvalpenes tilvækst. Til undersøgelsen blev anvendt 3 hold á 300 brune tæver, kontrolholdets tæver blev fodret med grundfoder fra fødsel til fravænning, fra dag 28 blev der fodret på redekasselåget. Et forsøgshold fik det samme foder som kontrolholdet, men fra dag 28 blev der fodret både på buret og redekasselåget. Derudover fik et forsøgshold tilsat 5 % soyaolie til grundfoderet fra fødsel, og fra dag 28 fik tæverne fortsat dette foder på buret, hvorimod der blev fodret med grundfoder til hvalpene på redekasselåget.

Resultaterne viste at tæver, der hele dieperioden blev foderet på buret, havde en bedre vægt dag 49 end tæver der blev fodret på redekassen sammen med hvalpene fra dag 28 og frem. Desuden havde tæverne i den gruppe der fra fødsel blev fodret på buret med mere energirigt foder i forhold til kontrolholdet højere vægt i dieperioden, og vægten af han- og tæve hvalpene dag 28 var større hos disse tæver frem for hos tæver fodret med det samme foder som hvalpene.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Fodring i diegivningsperioden hos brune mink. Faglig Årsberetning 2015, 33-40. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

The purpose of the investigation was to see if different feeding principles of females and kits during the lactation period had beneficial effect on milk production and kit growth. We used three groups of 300 brown mink females and their litters. The control group was feed a basic feed from birth to weaning and from day 28 the females were feed on the nest box together with the kits. One of the investigation groups was given the same feed as the control group, but from day 28 we continued to feed the females on top of the cage and the kits on the nest box. To the last investigation group we added 5 percent of soya oil to the basic feed from birth and during the whole lactation period, but from day 28 we fed the basic feed for the kits on the nest box.

The results showed that females fed on the cage throughout the whole lactation period had a better weight day 49 than females fed together with the kits on the nest box from day 28 onwards. Moreover, there were higher weight of females in the lactation period in the group fed on the cage with high energy feed compared to the control group, and weight of male and female kits day 28 were greater in this group than in the other groups.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Feeding brown mink in the lactation period. Annual Report 2015, 33-40. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Placement of feed, energy content, body weight

## Indledning

Fodring af tæverne i dieperioden i maj er væsentlig for hvordan hvalpene senere klarer sig. Generelt kan man sige at jo flere kalorier tæven æder, jo mere mælk producerer hun og jo større bliver hvalpene (Clausen & Larsen, 2015a; Clausen & Hejlesen, 2001, 2002; Clausen, 2011). Der er dog en grænse for hvor meget tæven kan æde (Clausen & Larsen, 2012) og det er derfor utroligt væsentligt at foderet er kalorierholdigt, velsmagende og højt fordøjeligt. En reduktion i foderoptagelsen hos tæverne

på grund af højt indhold af fibre og vand, gav mindre hvalpe og flere tæver der blev for tynde ved fravænning (Clausen *et al.*, 2015). Tæver har behov for foder med højt energiindhold i laktationsperioden (Clausen, *et al.*, 2004, 2005; Fink & Tauson, 2000, 2002; Fink *et al.*, 2001), hvorimod hvalpene har brug for foder med højere proteinindhold og meget vand når de begynder at æde (Clausen, *et al.*, 2004, 2005; Clausen og Larsen, 2014; Risager *et al.*, 1992; Clausen, 1993). Der dør ikke så mange hvalpe med bidskader blandt de hvalpe der har det højeste

vandoptag pr 100 kcal (Clausen, 2011; Clausen, 2010).

Det ser således ikke ud til at tæver og hvalpe har samme behov til foderet i dieperioden, derfor afprøves foder med højt energiindhold til tæverne og højere protein og vandindhold til hvalpene, mod kontrolfoder med ens foder til tæver og hvalpe. Desuden undersøges hvorvidt tæverne har gavn af at blive fodret på buret gennem hele dieperioden.

### Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 3 hold á 300 brune tæver (hold 1-3). Tæver og hanner blev slanket ned til primo januar og huldstyring i vinterperioden foregik som beskrevet af Nilsen *et al.* (2013). Huldet blev registreret hos alle tæver d. 27/2 og dagen efter fødsel på en skala fra 1 til 5 med score 1 til de tyndeste og score 5 til de fedeste (Hynes *et al.*, 2004). Gennem vinterperioden blev vægtudviklingen fulgt ved at veje 15 tæver hver uge. Straks efter fødsel blev fodertildelingen til tæverne øget dagligt, dog således at hver tæve blev fulgt individuelt.

Gennem hele vinter og diegivningsperioden blev tævernes daglige fodertildeling fulgt. Indtil fødsel var det den gennemsnitlige tildeling pr hold der blev registreret, efter tæverne var sat ud til fødsel var det den individuelle fodertildeling pr tæve. I de hold hvor der både blev fodret på buret til tæven og på redekassen til hvalpene fra dag 28, blev fodertildeling registreret begge steder. Tæver og hvalpes foderforbrug blev justeret dagligt.

Dyrene blev fodret ens med fodercentralfoder indtil fødslen. Kontrolholdet (KON) fortsatte med fodercentralfoder i hele perioden (tabel 1), indtil dag 28 blev der fodret på buret dernæst blev både tæver og hvalpe fodret på redekassen. Hold 2 (T\_BUR) fik ligeledes fodercentralfoder, fra dag 28 blev hvalpene fodret på redekassen, men tæverne fortsatte med at få foder på buret hele perioden. Fodringsprincippet til hold 3 (F\_BUR) var som til hold 2, men foderet til tæverne blev i hele perioden fra d. 20/4 til fravænning tilsat 5 % soyaolie. Til hvalpene blev tilsat så meget vand som foderet kunne bære i alle holdene.

**Tabel 1. Forsøgsopstilling til undersøgelse af fodring i diegivningsperioden hos brune mink. (Kontrol foder er foder fra en fodercentral.)**

Hold	Antal tæver v. start	Fodring i dieperioden
KON	300	Kontrol foder i hele perioden, hvalpe og tæver fodres på redekassen fra dag 28
T_BUR	300	Tæver fodres på buret med kontrolfoder i hele perioden, hvalpe fodres på redekassen fra dag 28 med kontrolfoder
F_BUR	300	Tæver fodres på buret m. ekstra fedt* i kontrolfoderet i hele perioden, hvalpe fodres på redekassen fra dag 28 med kontrolfoder

\* 5 % soyaolie

Kontrolfoderets analyserede energiindhold var 124 kcal/100 g, tørstof var 32,2 % og energifordeling var 45,3:39,9:14,8 (protein:fedt:kulhydrat).

Tilsætning af fedt til hold 3 (5 % soyaolie) gav en stigning i energiindholdet til 156 kcal/100 g, tørstof steg til 35,3 % og energifordelingen blev 35,3:53,2:11,5.

Tæver i alle hold blev vejlet primo januar og 21. februar, samt dag 28 og dag 49 efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28, 42 og 49 efter fødsel, og udvalgte kuld blev vejlet dag 28 og dag 49 efter fødsel. Døde hvalpe blev registreret hele perioden og obduceret fra dag 28 efter fødsel. I tilfælde af bid og/eller slagsmål blev dette registreret, hvalpene blev behandlet og kuldet blev delt, ligeledes blev antallet af kuld med små og

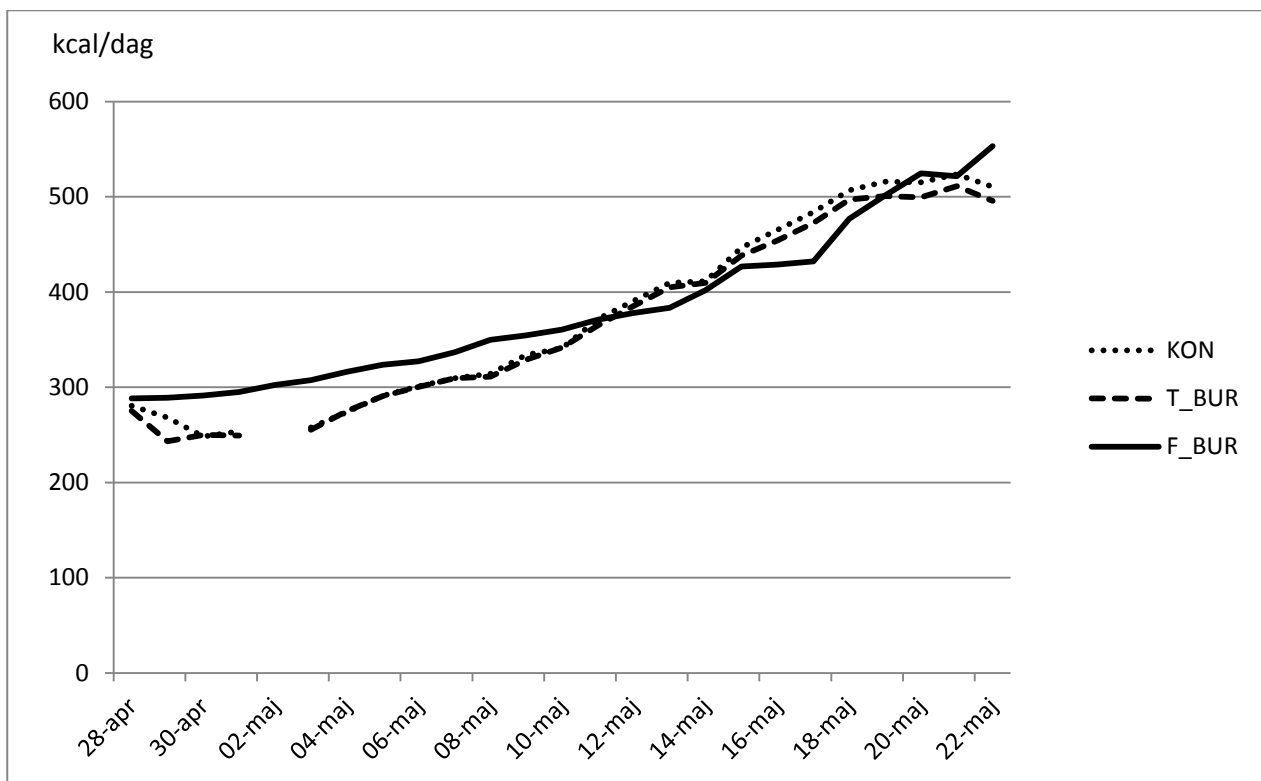
underernærede hvalpe registreret. I alle hold blev kuld med 6 hvalpe og flere delvist fravænnede dag 42 for at undgå bid blandt hvalpene (Clausen & Larsen, 2015b).

Kropsvægte og kuldresultater er analyseret med statistikprogrammet SAS. Procedurene GLM (ss4), LSMEANS / PDIF er anvendt med 5 % som signifikansniveau. Relevante kovariater er medtaget i de tilfælde de er signifikante. Forskel i huld og goldprocent er analyseret med  $X^2$  eller Probit.

## Resultater og diskussion

### Fodertildeling

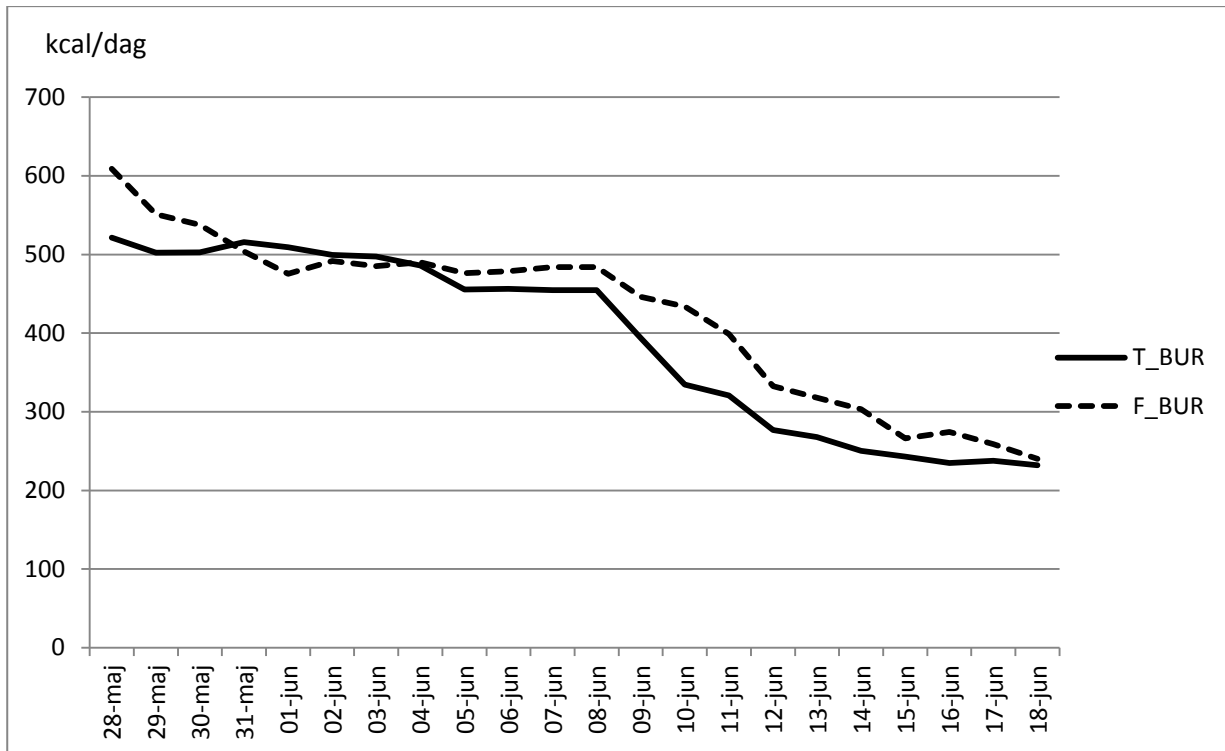
Alle tæver blev fodret på samme måde gennem vinteren 2015 indtil 20. april. Registrering af fodertildelingen i maj viste, at tæver fodret med et højere energiindhold i foderet fra 20. april (F\_BUR) havde et højere kalorieindtag i begyndelsen af maj end de andre hold (figur 1). Det er tidligere vist at høj fodringsintensitet til tæverne straks efter fødslen er til gavn for væksten af hvalpene (Clausen & Hejlesen, 2002; Clausen & Larsen, 2015a).



Figur 1. Udfodret foder mængde til tæverne i kcal/dyr/dag fra fødsel til dag 28 efter fødsel.

Fra dag 28 blev hvalpene fodret på redekassen, mens tæverne i T\_BUR og F\_BUR stadig blev fodret på toppen af buret. Tævernes foder tildeling (figur 2) viste, at de fortsatte med at æde store mængder af foder oven på buret indtil omkring dag 42, hvorefter de reducerede deres foderforbrug, sandsynligvis på

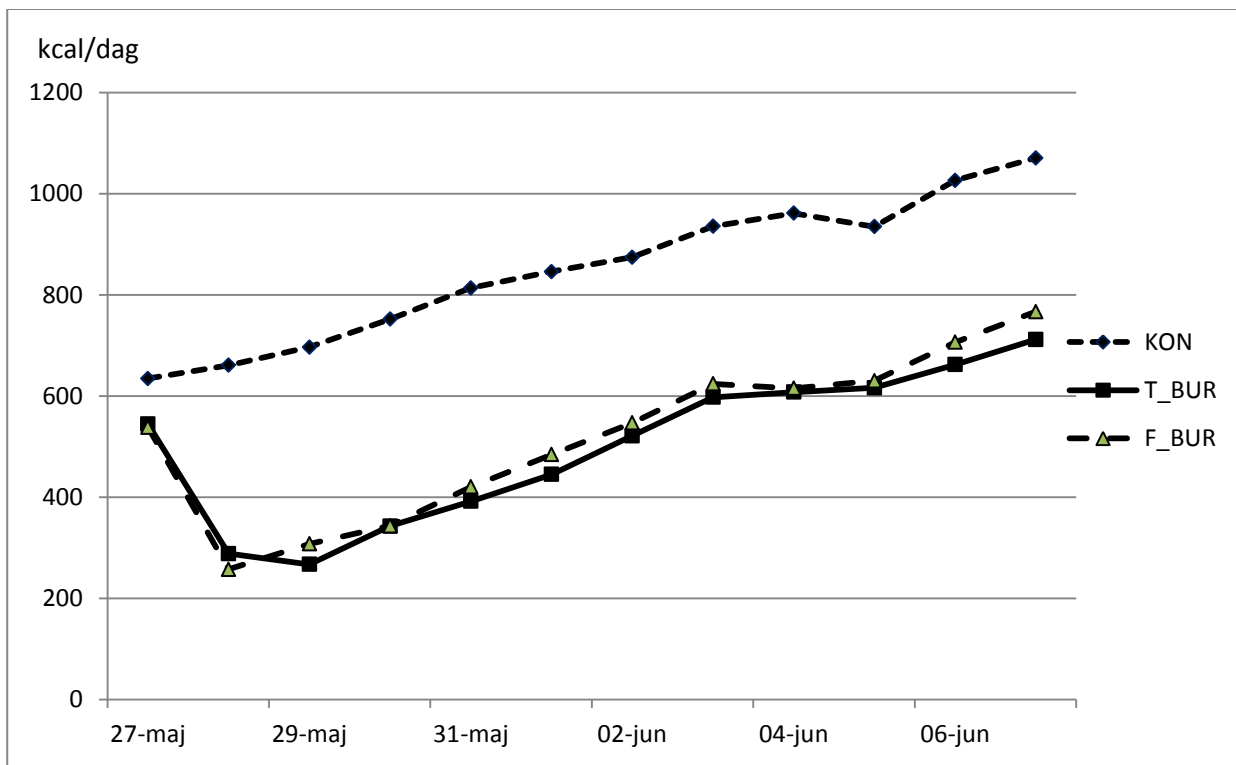
grund af nedsat mælkeproduktion. Tæverne reducerer deres mælkeproduktion omkring dag 42. I henhold til Pinkalski & Møller (2015) er mængden af kirtelvæv på sit højeste dag 28, omtrent halveret dag 42 og halveret igen dag 49, hvor det er svunden ind.



Figur 2. Fodertildeling til de tæver der fortsatte med at æde på buret efter dag 28 efter fødsel (T\_BUR og F\_BUR).

Fra dag 28 blev tæverne i KON fodret sammen med hvalpene på redekassen. Hvalpene i T\_BUR og F\_BUR startede op

med omkring 250 kcal pr bur (figur 3). Fodertildelingen blev tilpasset dyrenes ædelyst.



Figur 3. Fodring på redekassen efter dag 28, alle grupper.

### Tæver

Der var ikke forskel mellem holdene i dyrenes huld. D. 9. januar var holdenes huldgennemsnit fra 3,04 til 3,05, d. 9. februar var variationen fra 2,10 til 2,15 og d. 21. april og dagen efter fødsel var det fra 3,09 til 3,13.

Tævernes vægtudvikling fra sortering til fødsel blev fulgt gennem et vejehold (figur 4). Der var et jævnt vægttab fra sortering (primo november) til flushing, og dernæst en jævn stigning indtil fødsel.

Alle tæver blev vejet flere gange i vinterperioden (tabel 2), tæverne var passet og fodret ens og der var ikke forskel mellem holdene.

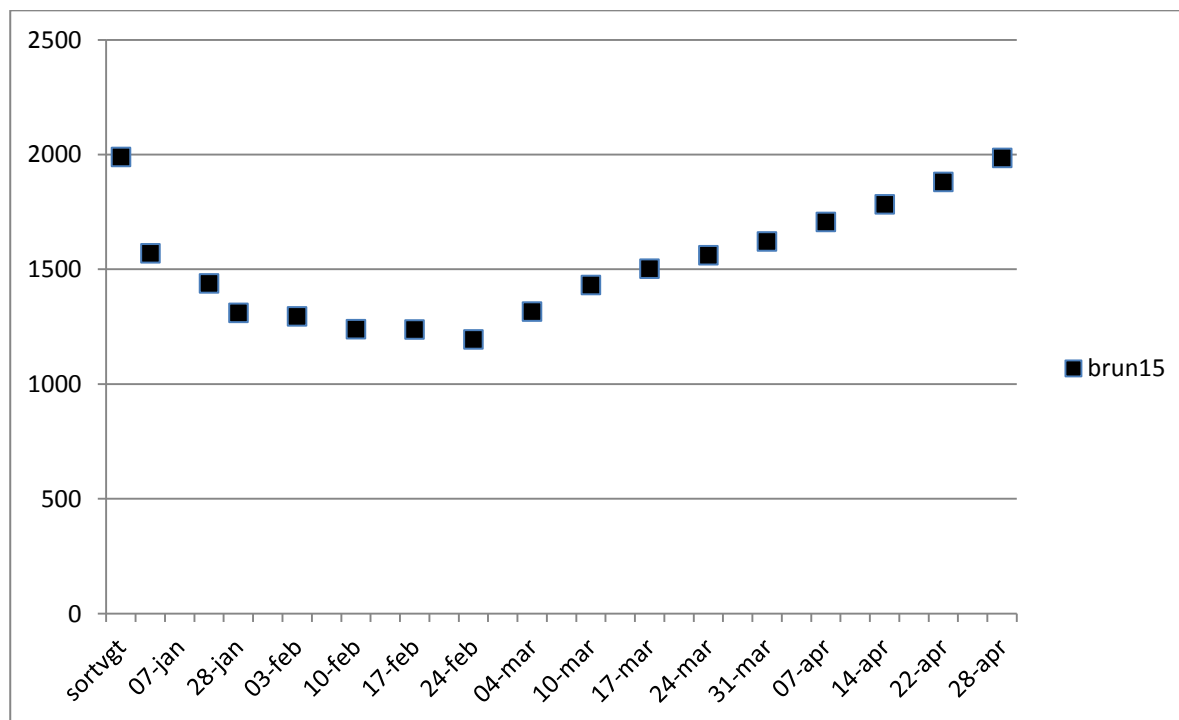
Tabel 2. Tævernes vægtudvikling gennem perioden.

Hold	Sorterings * vægt, g	Vægt 6/1, g	Vægt 24/2, g
KON	1884 (164)	1569 (208)	1230 (198)
T_BUR	1895 (170)	1574 (218)	1234 (190)
F_BUR	1908 (174)	1581 (204)	1256 (182)
	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne; Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er signifikant forskel; \* kun ungtæver blev vejet ved sortering

I dieperioden blev omkring 170 tæver vejet (tabel 3). Dag 28 efter fødsel vejede tæverne i F\_BUR signifikant mere end tæverne i de øvrige hold. F\_BUR tæver fik ekstra fedt i foderet fra d. 20. april og åd mere i starten af maj måned. Andre undersøgelser af højt energiindhold i foderet i de første 4 uger af dieperioden har også vist sig at være gavnligt for tæverne (Clausen *et al*, 2004, 2005; Fink & Tauson, 2000, 2002; Fink *et al*, 2001). Dag 49 vejede F\_BUR tæver stadig mere end KON, men T\_BUR hvor tæverne blev fodret med kontrolfoder på buret også efter dag 28, vejede ligeledes mere end KON tæverne. Det ser således ud til at der er en gavnlig effekt af at tæven bliver fodret for sig selv, måske fordi hun ikke behøver konkurrere med hvalpene om foderet.

Antallet af døde tæver gennem vinter- og dieperioden fremgår af tabel 4, deraf døde 3 med fødselsbesvær (i KON) og én tæve der var tynd ved fravæning (i T\_BUR).



Figur 4. Vægtudviklingen i gram, 15 tæver (hold 2), sorteringsvægten er primo november.



Tabel 3. Tævernes vægt i dieperioden, LSmeans værdier.

	Dag 28	Dag 49
KON	1576 (14,3) b	1429 (15,0) b
T_BUR	1570 (13,8) b	1475 (14,5) a
F_BUR	1627 (13,8) a	1502 (14,5) a
	0,007	0,002

Tallene i parentes er SEM; Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er signifikant forskel mellem holdene

Tabel 4. Procent døde / aflivede tæver.

	Procent
KON	2,9
T_BUR	1,3
F_BUR	2,6

### Reproduktionsresultater

Tæverne var behandlet ens indtil fødsel og der var som forventet ingen forskel i kuldstørrelse eller goldprocent (tabel 4).

Døde hvalpe pr kuld gennem hele perioden var fra 0,6 til 0,8 og der var ikke problemer med bid, fedtede eller utrivelige hvalpe.

Tabel 4. Reproduktionsresultater i alle tre grupper.

Hold	Kuldstørrelse					Gold %
	Levende v. fødsel	Døde v. fødsel	Dag 28	Dag 42	Dag 49	
KON	8,03 (2,61)	0,67 (1,3)	7,27 (2,77)	7,24 (2,49)	7,21 (2,48)	4,0
T_BUR	7,81 (2,55)	0,69 (1,2)	7,33 (2,57)	7,24 (2,50)	7,22 (2,51)	4,9
F_BUR	7,70 (2,59)	0,61 (1,2)	7,09 (2,61)	6,93 (2,50)	6,89 (2,52)	5,3
	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne

### Hvalpevægte

Øget energiindhold i foderet og fodring af tæverne oven på buret i hele diegivningsperioden var til gavn for

tævernes mælkeproduktion, idet det resulterede i højere hvalpevægte dag 28 (tabel 5). Dag 49 var der ikke signifikant forskel mellem holdene.

Tabel 5. Hvalpevægte dag 28 og dag 49 efter fødsel.

Hold	Hvalpevægte dag 28, g		Hvalpevægte dag 49, g	
	Hanhvalpe	tævehvalpe	Hanhvalpe	tævehvalpe
KON	220 (32) b	199 (26) b	671 (98)	558 (76)
T_BUR	225 (34) ab	203 (31) b	677 (100)	574 (80)
F_BUR	232 (37) a	211 (32) a	684 (101)	577 (81)
	0,007	0,0006	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne; Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er signifikant forskel.

### Konklusion

Resultaterne viste, at tæver der hele dieperioden blev foderet på buret havde en bedre vægt dag 49, end tæver der blev fodret på redekassen sammen med hvalpene fra dag 28 og frem. Desuden var der højere vægt på tæver i dieperioden i den gruppe der fra fødsel blev fodret på buret med mere energirigt foder i forhold til kontrolholdet, samtidig med at vægten af han- og tævehvalpene dag 28 var større hos disse tæver frem for hos tæver fodret med det samme foder som hvalpene

### Referencer

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015a. Reduceret fodertildeling i april og første halvdel af maj Faglig Årsberetning 2014, 75-87. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015b. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Clausen, T.N., Hvam, K., Tinggård, L. & Larsen, P.F., 2015. Vandbalance efter LactiGel fibertilsætning til foderet. Faglig Årsberetning 2014, 43 - 50. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2014. Effekt af ekstra vand i dieperioden. Faglig Årsberetning 2013, 97 - 100. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2012. Undersøgelse af hvor stor en procentdel fibre i foderet mink vil acceptere, før de nedsætter deres energioptag. Faglig Årsberetning 2011, 84-93. København Forskning, Agro Food Park 15, DK- 8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N., 2011. Kraftig fodring af hvalpe i juni - juli. Faglig Årsberetning 2010, 55 - 58, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., 2010. Water balance in 8 week old mink kits. NJF Seminar no. 440, September 29 – October 1, 2010, Oslo, Norway, Poster presentation

Clausen, T.N., Hejlesen, C. & Sandbøl, P., 2005. Protein til mink i dieperioden og i den tidlige vækstfase Faglig Årsberetning 2004, 77 - 81. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T.N., Hejlesen, C. & Sandbøl, P., 2004. Proteinforsyning til minktæver og hvalpe i første halvår. Faglig Årsberetning 2003 for Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, 75 - 79.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2002, Ad libitum eller restriktiv fodring af tæver i maj, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2001, 77-80.

Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2001. Kraftig eller svag fodring af standard tæver i drægtighedsperioden 2000. Faglig årsberetning for pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed 2000, 51-54.

Clausen, T.N., 1993. Undersøgelse over sammenhængen mellem foderets tørstofprocent og dieperiodens forløb. Faglig Årsberetning 1992, 118 - 123, Dansk Pelsdyravlerforening.

Fink, R. and Tauson, A.-H. 2002. Milk production in mink (*Mustela vison*) - Effect of protein supply. NJF-seminar no 347. Vuokatti, Finland. Poster.

Fink, R. og Tauson, A.-H. 2000. Mælkeproduktion - effekt af energifordeling mellem protein, fedt og kulhydrat. In: Bilag til temadag: En god start i livet for minkhvalpen (Ed. B.M. Damgaard). Danmarks Jordbrugs-Forskning, Intern Rapport 135, p. 39-44.

Fink, R., Tauson, A.-H. & Børsting, C.F. 2001. Dietary protein, fat and carbohydrate supply to lactating mink (*Mustela vison*) - Effect on glucose homeostasis, energy metabolism and milk production. NJF-seminar, Helsingør, October 2001, p. 41-50.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, September 15 – 18. Scientifur, 28, 3, 79 - 86.

Nielsen, E., Larsen, P.F. & Clausen, T.N., 2013. Effect of body condition on litter size in mink Experience from Copenhagen Farm. Poster presentation NJF Seminar 464, 28-30 August 2013, Island

Pinkalski, M.N. & Møller, S.H. 2015. Grundlag for højere mælkeproduktion 6 uger efter fødsel hvis minktæver fodres efter ædelyst fra starten af dieperioden. Faglig Årsberetning 2014, 167-173, Copenhagen Research, Agro Food Park 15, Aarhus N DK-8200, Denmark.

Risager, H.J., Clausen, T.N. & Olesen, C.R., 1992, Variationer i foderets

tørstofprocent og dets betydning for fremkomsten af diegivningssyge hos minktæver. Faglig Årsberetning 1991, 190-197. Dansk Pelsdyravlerforening.

SAS Institute Inc., 1996. SAS ® System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp

# Svinefedt eller sojaolie til mink i dieperioden

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

For at undersøge hvorvidt sojaolie eller svinefedt er at foretrække for hvalpenes vægtudvikling i diegivningsperioden anvendte vi to hold med 300 brune tæver i hver. Sojaolie eller svinefedt blev brugt i perioden 20. april til dag 49 efter fødsel. Udover fedt fra sojaolie og svinefedt var der den samme mængde fedt fra de øvrige råvarer i begge grupper i foderet.

Resultaterne viste ingen forskel i hvalpenes eller tævernes vægtudvikling, uanset om tilsat fedt var svinefedt eller sojaolie.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Svinefedt eller sojaolie til mink i dieperioden. Faglig Årsberetning 2015, 41-46. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

To investigate whether soya oil or lard is preferable for the growth of mink kits in the lactation period we used two groups of each 300 brown females. Soya oil or lard was used in the period April 20 to dag 49 after birth. Besides fat from soya oil and lard there were an equal amount of fat from the other raw materials in the feed in both groups.

The results showed no difference in kits or females body weight regardless of whether the added fat was lard or soya oil.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Lard or soya oil to mink in the lactation period. Annual Report 2015, 41-46. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Lard, soya oil, lactation period, body weight

## Indledning

Minkhvalpes fordøjelsessystem er ikke fuldt udviklet når hvalpene begynder at æde, det er således væsentligt at foderet til hvalpene er så letfordøjeligt som muligt. Først i en alder af 10 - 12 uger er fordøjeligheden af næringsstofferne på samme niveau som hos udvoksede hanner (Elnif og Hansen; 1987; 1988). At hvalpenes evne til at fordøje råfedt øges med alderen indikeres af at lipase-aktiviten stiger markant i hvalpenes første 9-10 leveuger (Elnif *et al.* 1994, Layton 1998). Lipaseaktiviteten hos voksne mink ligger ca. en faktor 4 over middelniveauet for hvalpene i dieperioden (Elnif *et al.*, 1994). Der er desuden forskel i minks evne til at fordøje de forskellige fedtsyrer. Stearinsyre (mættet fedt) reducerer fedtfordøjeligheden markant, mens andelen af umættede fedtsyrer øger den lidt (Jørgensen og Hansen, 1973). Svinefedt indeholder en del mere mættet fedt end sojaolie, og fordøjeligheden af svinefedt hos voksne mink er 90 mod en fordøjelighed af sojaolie på 95. Forholdet imellem de forskellige fedtsyrer i foderet

er ligeledes væsentlig for dyr og menneskers sundhed. Afprøvning af forskellige forhold mellem n-6 og n-3 fedtsyrer i foderet til tæver i dieperioden ( $\omega 6:\omega 3$  på 12,4:1 - 5,0:1 - 1,8:1 - 0,9:1 og 0,3:1) ved at anvende forskellige kombinationer af solsikkeolie, rapsolie og fiskeolie (Clausen *et al.*, 2004) viste at foderets indhold af fedtsyrer er bestemmende for mælkens indhold af fedtsyrer og at fedtsyresammensætningen i hvalpenes fedtvæv 28 dage efter fødsel afspejler tævens diæt. Forsøgene indikerede de bedste hvalpevægte ved de højeste  $\omega 6:\omega 3$  forhold, men det var på meget få dyr. Resultater fra Bjergegaard *et al.* (2003), viste tilsvarende at hvalpe fra tæver fodret med en høj andel af fiskeolie (lav  $\omega 6:\omega 3$ ) opnåede lavere kropsvægte ved fravæanning end hvalpe fra tæver fodret med forskellige planteolier. I svinefedt og sojaolie er der ikke væsentlig forskel på  $\omega 6:\omega 3$  forholdet (omkring 8,5). Til hundehvalpe anbefales at linolsyre (C18:2- $\omega 6$ ) skal udgøre 1,3 % af tørstoffet, til killinger angives anbefalet

tildeling af linolsyre til 0,55 % af tørstoffet og anbefalet tildeling af arachidonsyre til 0,02 % af tørstoffet (NRC 2003).

For at afprøve hvorvidt sojaolie eller svinefedt er at foretrække for hvalpenes vækst i dieperioden blev to hold anvendt

hvor den tilsatte fedtkilde var henholdsvis svinefedt eller sojaolie.

### Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 2 hold á 300 brune tæver (tabel 1).

**Tabel 1. Forsøgsopstilling i brune mink, vinter- dieperioden**

Hold	Feddtype	Energifordeling
SV-4	Svinefedt som fedtkilde til tæve og hvalpe fra 20. april	45:40:15
SOY-5	Sojaolie som fedtkilde til tæve og hvalpe fra 20. april	45:40:15

Dyrene blev fodret ens med fodercentralfoder indtil 20. april, dernæst blev foderet ændret gradvis fra fodercentralfoder til forsøgsfoder i perioden 20. – 24. april (tabel 2). Det ene

hold (SV-4) fik foder hvor al tilsat fedt var svinefedt og det andet hold fik foder hvor al tilsat fedt var sojaolie (SOY-5), de resterende råvarer var tilnærmelsesvis ens.

**Tabel 2. Fodersammensætningen i dieperioden**

Råvare	Hold	
	SV-4	SOY-5
Fiskeafskær < 3 % fedt	25,0	25,0
Industrifisk 5-8 % fedt	37,8	37,8
Affedtet fjerkræ Løgstør	17,0	17,0
Ensilage Fishpro	3,0	3,0
Byg + Hvede poppet	8,6	8,6
Hæmoglobinmel	2,0	2,0
Kartoffelprotein	2,0	2,0
Majsgluten	1,4	1,6
Sojaolie		2,9
Svinefedt	3,0	
Vitaminblanding	0,2	0,2
Salt	0,4	0,4
Vand		
Plantal		
Tørstof	35	35
Aske, %	3,0	3,0
Energi, kcal/100 g	146	147
Energifordeling, P:F:K	45:40:15	45:40:15

Fodringsprincip for tæver og hanner gennem vinterperioden fulgte farmens normale procedure (Nielsen *et al.*, 2013). Fodringsprincip i parring-drægtighed og perioden omkring fødsel fulgte de seneste forsøgsresultater (Clausen & Larsen, 2015a). Huldet blev registreret hos alle tæver d. 9/1, 9/2, 21/4 og dagen efter fødsel på en skala fra 1 til 5 med score 1 til de tyndeste og score 5 til de

fedeste (Hynes *et al.*, 2004). Fodertildelingen blev fulgt gennem hele vinter og diegivningsperioden. Tæverne blev vejjet 6. januar, 24. februar, dag 28 og dag 49. Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28, 42 og 49, og ca. 170 kuld pr hold blev vejjet dag 28 og dag 49. Døde hvalpe blev registreret i hele perioden og obduceret fra dag 28. I tilfælde af bid eller slagsmål, blev dette registreret, hvalpene

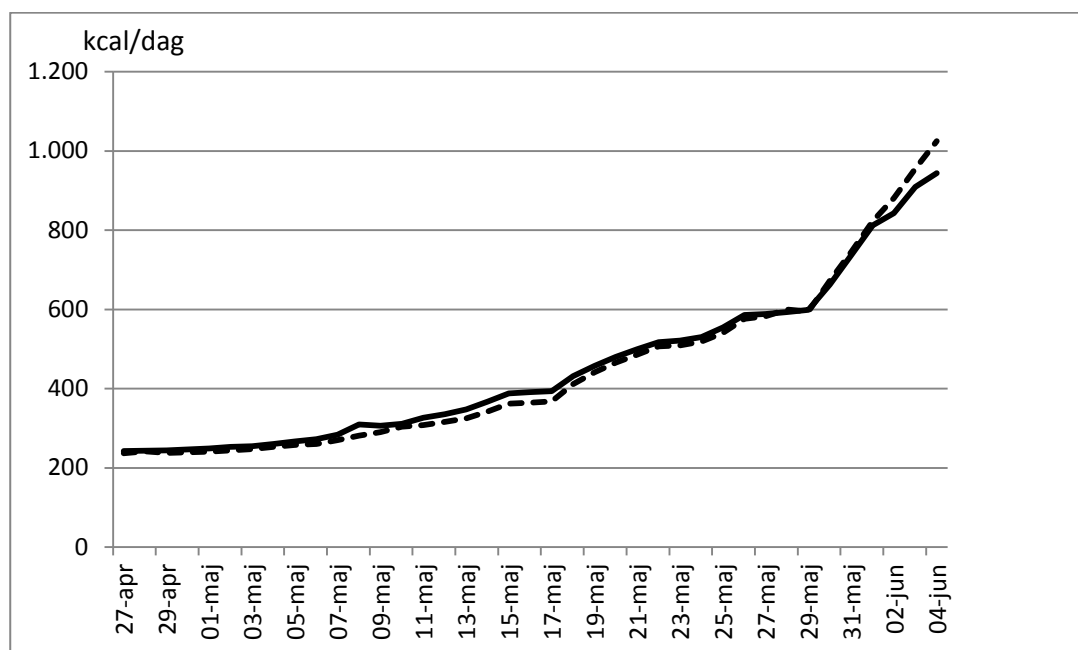
blev behandlet og kuldene delt. Der blev anvendt delvis fravæning af store hvalpe dag 42 i alle hold i henhold til Clausen & Larsen (2015b). Der blev udført fordøjelighedsforsøg med 8 uger gamle hvalpe på begge fedttyper. Foderet blev analyseret for sammen-sætning, bakteriologisk og kemisk kvalitet samt fedtsyresammensætning.

Kropsvægte og kuldresultater blev analyseret med statistikprogrammet SAS.

Procedurerne GLM (ss4), LSMEANS / PDIFF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Forskel i huld og goldprocent blev analyseres med  $X^2$  eller Probit.

### Resultater og diskussion

Foderoptagelsen gennem perioden var ens i de to hold (figur 1).



Figur 1. Foderoptagelsen i kcal pr dag i SV-4 (stiblet linie) og i SOY-5 (linie)

Foderanalyserne (tabel 3) viste ikke en god overensstemmelse med de planlagte værdier, fedtindholdet i industrifisken var betydeligt højere end beregnet, men da det gjaldt for begge hold blev planerne

ikke ændret. En energifordeling til tæverne i dieperioden på 41:46:13 er udmærket for mælkeproduktionen (Hejlesen & Clausen, 2002; Clausen & Hejlesen, 2003).

Tabel 3. Foderets analyserede kemiske sammensætning

	Hold	
Råvare	SV-4	SOY-5
Analysetal		
Tørstof	31	31
Aske, %	2,2	2,3
Energi, kcal/100 g	137	139
Energifordeling, P:F:K	40,7 : 46,0 : 13,3	40,4 : 46,1 : 13,5

Foderets analyserede fedtsyresammensætning (tabel 4) viste et forhold mellem  $\omega 6:\omega 3$  på 0,76 i SV-4 og 1,64 i SOY-5. Tidligere undersøgelser (Clausen *et al.*,

2004; Bjerregaard *et al.*, 2003) viste bedre hvalpetilvækst ved højere  $\omega 6:\omega 3$  forhold, men holdene i denne undersøgelse lå forholdsvis ens så det

formodes ikke at have nogen betydning for resultaterne.

Indholdet af linolsyre i procent af tørstof var 1,9 hhv. 4,8 for SV-4 og SOY-5 hvilket i begge tilfælde er over det der angives som nødvendigt til hundehvalpe (1,3 %) og killinger (0,55 %) (NRC 2003).

Huldudviklingen gennem perioden var ens i holdene, d. 6. januar var hullet 3,0 hhv. 3,1, d. 9. februar var det 2,2 i begge hold og d. 21. april samt dagen efter fødsel var det 3,1 i begge. Vejninger af tæven gennem vinterperioden viste ingen signifikant forskel mellem holdene (tabel 5). Dag 28 og dag 49 blev der vejet 160 – 180 tæver pr hold (alle tæver der havde født inden for en uge).

Tabel 4. Fedtsyresammensætningen i foderet,

	pct. af fedtsyrer		g/kg i foder		% af tørstof	
	Hold		Hold		Hold	
Fedtsyrer	SV-4	SOY-5	SV-4	SOY-5	SV-4	SOY-5
Palmitinsyre (C16:0)	23,2	17,5	15,8	11,7		
Stearinsyre (C18:0)	8,85	3,83	6,05	2,55		
Oliesyre (C18:1)	30,8	26,6	21,1	17,7		
Linolsyre (C18:2- $\omega$ 6)	8,88	23,32	6,07	15,56	1,91	4,82
$\alpha$ -Linolensyre (C18:3- $\omega$ 3)	2,11	3,43	1,44	2,29	0,45	0,71
Sum $\omega$ 3	13,36	14,88				
Sum $\omega$ 6	10,17	24,44				
$\omega$ 6 : $\omega$ 3	0,76	1,64				
Tørstof, %	31,8	32,3				

Tabel 5. Tævevægte gennem vinter og dieperioden

Hold	Sorteringsvægt, g *	Vægt 6. januar, g	Vægt 24. februar, g	Vægt dag 28, g	Vægt dag 49, g
SV-4	1898 (165)	1578 (207)	1253 (189)	1495 (210)	1325 (191)
SOY-5	1896 (174)	1608 (210)	1261 (194)	1534 (195)	1337 (186)
p-værdi	NS	NS (0,08)	NS	NS (0,07)	NS

\* kun ungtæver; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene

I hele forsøgsperioden døde der 5,2 – 5,6 % af tæverne af forskellige årsager, og der var ikke forskel mellem holdene. Goldprocenten var lav og der var ikke forskel i hvalpeantallet pr kuld gennem hele forsøgsperioden (tabel 6).

Hvalpetabet pr kuld fra fødsel til dag 49 var 0,89 og 0,76 hhv i SV-4 og SOY-5.

Et udsnit af hvalpene blev vejet dag 28 og dag 49 efter fødsel (160 – 180 kuld) og der blev ikke fundet forskel mellem holdene (tabel 7).

Tabel 6. Hvalpe pr kuld gennem perioden og goldprocenten

Hold	Levende v. fødsel	Døde v. fødsel	Dag 28	Dag 42	Dag 49	Gold % *
SV-4	7,96 (2,77)	0,49 (1,18)	7,22 (2,77)	7,17 (2,62)	7,07 (2,66)	6,3
SOY-5	7,62 (2,94)	0,69 (1,29)	7,02 (2,89)	6,99 (2,79)	6,86 (2,79)	4,6
p-værdi	NS	NS	NS	NS	NS	NS

\* sterile hanner er udtaget; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene

Tabel 7. Hvalpevægte, g

Hold	Vægt dag 28		Vægt dag 49	
	Hanhvalpe	Tævehvalpe	Hanhvalpe	Tævehvalpe
SV-4	201 (34)	185 (33)	525 (109)	471 (102)
SOY-5	202 (32)	186 (31)	514 (123)	454 (86)
p-værdi	NS	NS	NS	NS (0,06)

NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene

Dag 49 efter fødsel var der tendens til højere vægt af tævehvalpene, når der blev anvendt svinefedt som fedtkilde. Der var lidt problemer med utrivelighed hos nogle af hvalpene i slutningen af dieperioden, disse fik tildelt ekstra vand. I SOY-5 var der således 22 kuld der fik opsat kaninvandflasker og tyndt foder mod 12 kuld i SV-4, ligeledes var der hhv. 10 (SOY-5) og 8 (SV-4) kuld hvor hvalpene blev flyttet tilbage til kullet efter at de var blevet delvist fravænnnet.

### **Konklusion**

Resultaterne viste ingen forskel i hvalpenes eller tævernes vægtudvikling, uanset om tilsat fedt var svinefedt eller sojaolie.

### **Referencer**

- Bjergegaard, C., Clausen, T.N., Lassén, T.M., Mortensen, K., Sørensen, H., Sørensen, J.C. & Sørensen, S., 2003: Growth and development of mink as a function of different plant or fish oils included in feed used to mink in the gestation and nursing period. NJF-Seminar no. 354, Lillehammer Norge 8 – 10. okt.
- Clausen, T.N. & Hejlesen, C., 2003. Reduceret protein til standard i vinter- og dieperioderne. Faglig Årsberetning 2002, 23 – 25. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Forskningscenter, Herningvej 112C, 7500 Holstebro.
- Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015a. Reduceret fodertildeling i april og første halvdel af maj til drægtige og diegivende tæver. Faglig Årsberetning 2014, 75-87. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.
- Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015b. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.
- Clausen, T., Hansen, M.U., Lassén, M., Mortensen, K., Sørensen, H., Sørensen, J.C. & Tauson, A.H. (2004). Fedtsyreprofiler i minkmælk og hvalpenes fedtdepoter som funktion af forholdet mellem n-6 og n-3 fedtsyrer i foderet til. Faglig Årsberetning 2003, 67-74. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.
- Elnif, J., Mortensen, K., Olesen C. R. & Sørensen, H. 1994. Lipaseaktivitet i pancreas fra minkhvalpe. Faglig Årsberetning 1993/1994 (2. udg.) 179-185 (121-126), Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed A/S, Holstebro, Danmark.
- Elnif J., Hansen N. E., 1987. Sammenligning af næringsstofferne fordøjelighed hos minkhvalpe og udvoksede hanner (pastel type). NFJ-Seminar 128, Tromsø
- Elnif J., Hansen N. E., 1988. Production of Digestive Enzymes in Mink Kits. Biology, Pa-thology and Genetics of Fur Bearing Animals. Ed. Murphy B. D., 320-326
- Hejlesen, C. & Clausen, T.N., 2002. Energifordeling i minkfoder i vinter- og reproduktionsperioderne. Faglig Årsberetning 2001, 69 - 75. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed, Holstebro, Danmark.
- Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and gly-cemic control in mink females during re-production and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Produc-tion, Den Bosch, The Netherlands, Sep-tember 15 – 18. Scientifur, 28, 3, 79 - 86.



Jørgensen G. og Hansen N. G., 1973. Fedtsyresammensætningens indflydelse på fedtstoffernes fordøjelighed. Landøkonomisk Forsøgslaboratoriums efterårsmøde

Layton H., 1998. Development of digestive capabilities and improvement of diet utilization by mink pre- and post-weaning with emphasis on gastric lipase. Nova Scotia Fur Institute, 15<sup>th</sup> Anniversary Book 1984-1999, 54-55

Nielsen, E., Larsen, P.F. & Clausen, T.N., 2013. Effect of body condition on litter size in mink Experience from Copenhagen Farm. Poster presentation NJF Seminar 464, 28-30 August 2013, Island

NRC 2003. Nutrient requirements of Dogs and Cats. Prepublication copy, National Research Council og the National Academies, Washington, D.C.

# Fodring en eller tre gange dagligt i vækstperioden

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

For at undersøge hvorvidt mink bliver større ved flere gange daglig fodring frem for én gang, blev to grupper af sorte mink og to grupper af brune mink fodret hhv. én gang vs. 3 gange dagligt fra udsætning til oktober, og hhv. én gang vs. 2 gange dagligt fra oktober til pelsning.

Resultaterne viste at sorte hvalpe fodret tre gange dagligt åd mere og blev tungere ved pelsning, og der var en tendens til længere skind, hvorimod de brune hvalpe åd det samme i de to grupper og blev lige store. Der var ikke forskel i dyrenes sundhed mellem holdene.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Fodring en eller tre gange dagligt i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2015, 47-51. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

To investigate whether mink grow bigger if they are fed several times daily compared to once a day, two groups of black mink and two groups of brown mink were fed once a day or three times a day from weaning to October and once or twice a day from October to pelting.

The results showed that black mink fed three times daily ate more, were heavier at pelting and there was a tendency to longer skins, whereas brown mink ate the same in the two groups and reached equal size. There were no difference in health between groups.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Feeding one or three times daily in the growth period. Annual Report 2015, 47-51. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Feeding intensity, growth period, health

## Indledning

Mange avlere fodrer flere gange dagligt gennem vækstperioden, for at få minkene så store som muligt. Det er dog ikke vist, hvorvidt minkene faktisk bliver større ved at fodre flere gange, hvorledes deres foderforbrug er påvirket, og hvorvidt det har betydning for deres sundhed.

## Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 2 hold á hver 135 brune mink han og tæve par og 2 hold á hver 150 sorte mink han og tæve par (tabel 1). Hannerne og tæverne var placeret parvis i standardbure under hele forsøget.

Der blev anvendt fodercentralfoder (32 OE<sub>p</sub> fra 16/7–15/8, dernæst 27–28 OE<sub>p</sub> til pelsning). Kontrolholdene fik fordelt foder om morgenen og fik dernæst hele dagsrationen kl. ca. 11. Forsøgsholdene blev fodret kl. 7, 13 og 1 time før solnedgang (kl. 19–21). Fra oktober blev fodret 2 gange dagligt i forsøgsholdet, hhv. morgen og aften. Foderforbruget blev registreret gennem hele perioden, ved at veje fodermaskinen før og efter udfodring. Foderspild blev registreret i perioden 15/9–22/9 og igen i perioden 21/10–28/10 hos brune mink, ved at opsamle foder der faldt ned under buret ved 12 bure i en uge i hvert hold.

Minkene blev vejlet ved udsætning (8/7), medio august (12/8), i september (22/9) og ved pelsning. Hanskindene blev længdemålt og kvalitetssorteret på forsøgsfarmen. Alle dyr der døde fra udsætning til pelsning blev obduceret. Ved pelsning blev der udtaget blod og organprøver af 2 x 20 tilfældigt udvalgte brune han hvalpe fra hver gruppe, 20 dyr

Tabel 1. Holdopstilling

Hold	Antal hanner
<b>Brune</b>	
23 Kontrol	135
24 fodring x 3	135
<b>Sorte</b>	
73 Kontrol	150
74 fodring x 3	150

pr hold blev fastede i 17 timer og 20 blev fastet i 3 døgn. Fastede dyr udgår af vægtresultaterne ved pelsning samt af skindlængde og kvalitet.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Procedurerne GLM (ss4), LSMEANS / PDIF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau ved beregninger af vægte og skindlængde. Ved skindkvalitet, farve og renhed blev anvendt en non-parametrisk test (GENMOD). Silkethed, fyldighed og metallic blev analyseret med proceduren PROBIT eller X2. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

### Resultater og diskussion

Foderforbruget i holdene blev registreret fra 15/7 til 16/11 i de brune og fra 15/7 til 1/12 i de sorte (tabel 2). Brune mink er større end sorte og selv om de sorte levede ca. 2 uger længere, var der nogenlunde samme fodertildeling i de to farvetyper. I de brune er der ingen forskel i foderoptagelsen, men de sorte der blev fodret 3 gange dagligt, åd mere end dem der kun blev fodret 1 gang dagligt.

Foderspild i september var hhv. 0,9 og 2,0 % i hold 23 og hold 24, i oktober var

det 1 % i begge hold. Dyrene spilder mest tidligt i vækstperioden, så der burde have været en opsamling i juli og august.

**Tabel 2. Foderforbrug, kg pr dyr, er beregnet som et gennemsnit af foderoptagelsen pr bur, der er således ikke taget højde for forskellen mellem hanner og tæver**

	15/7-10/8	11/8-25/9	26/9-pelsn.	Total
<b>Brune</b>				
23 Kontrol	6,29	11,0	9,71	27,0
24 fodring x 3	6,46	11,1	9,75	27,3
<b>Sorte</b>				
73 Kontrol	5,63	9,86	11,8	27,3
74 fodring x 3	6,11	10,4	12,8	29,3

Foderforbruget afspejlede sig i vejeresultaterne, Der var lidt større tilvækst fra udsætning til august i brune mink fodret 3 gange dagligt frem for én gang (tabel 3), men ved pelsning var der ikke forskel i vægten for de brune mink. For sorte mink var der bedre tilvækst gennem hele perioden hos hvalpe fodret 3 gange dagligt, og ved pelsning var de tungere, de havde samtidig fået udfodret den største foder mængde (tabel 2).

På tilsvarende vis var der ikke forskel i skindlængderne i de brune, men der var en tendens til større skind ved 3 daglige fodringer i de sorte (tabel 4). Der var ikke forskel i kvalitetsparametrene (tabel 4).

**Tabel 3. Vejeresultater for hanhvalpe, gram**

	Vægt v. udsættelse 8/7	Vægt 12/8	Vægt 22/9	Vægt v. pelsning *	Tilvækst udsættelse til 12/8	Tilvækst udsættelse til pelsning *
<b>Brune</b>						
23 Kontrol	1166 (143)	2159 (230)	3156 (383)	3543 (385)	991 (151) b	2368 (335)
24 fodring x 3	1163 (160)	2200 (277)	3128 (494)	3531 (502)	1035 (178) a	2368 (430)
	NS	NS	NS	NS	0,03	NS
<b>Sorte</b>						
73 Kontrol	1122 (152)	1914 (219)	2705 (375)	2979 (425) b	783 (134) b	1844 (377) b
74 fodring x 3	1122 (145)	1968 (235)	2744 (356)	3095 (368) a	845 (155) a	1969 (303) a
	NS	NS	NS	0,03	0,0006	0,004

\* Uden dyr der fastede; Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er forskel, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel mellem holdene

Tabel 4. Skindlængde og skindkvalitet for hanhvalpe

	Skind- længde, cm *	Kvalitet *#	Farve #	Silkede, %	Uld, %		
					Flade	Normale	Fyldige
<b>Brune</b>							
23 Kontrol	94,8 (4,4)	7,1 (2,4)		16,0	4,8	70,4	24,8
24 fodring x 3	94,5 (4,9)	7,4 (2,7)		20,5	6,5	73,0	20,5
	NS	NS		NS	NS		
<b>Sorte</b>							
73 Kontrol	89,7 (4,8)	6,7 (2,4)	2,9 (0,9)	7,3	7,3	83,0	9,7
74 fodring x 3	91,0 (4,6)	6,1 (2,5)	2,9 (1,0)	7,0	7,7	84,5	7,8
	NS (0,07)	NS (0,1)	NS	NS	NS		

\* Uden fastede; # Skala fra 1 – 12 med 12 som bedst; # skala fra 1 – 5 med 5 som mørkest og 1 som mest røde; Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er forskel, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel mellem holdene

Den relative levervægt (tabel 5) (lever i procent af kropsvægten) var ikke forskellig mellem holdene, men der var en signifikant stigning i den relative lever-

vægt, når dyrene blev fastet i 3 døgn (tabel 6). Dette indikerer en øget fedtinfiltration i leveren.

Tabel 5. Pelsningsvægt, levervægt, den relative levervægt og lever fedt procent, 2 x 20 brune hanner pr hold

Brune	Faste	Pelsningsvægt, g	Levervægt, g	Relativ levervægt, %	Leverfedt % *
23 Kontrol	1 døgn	3493 (377)	81,2 (14,3)	2,33 (0,37)	12,9 (2,6)
	3 døgn	3322 (383)	84,3 (18,4)	2,54 (0,44)	28,5 (6,5)
24 fodring x 3	1 døgn	3397 (393)	76,9 (12,3)	2,26 (0,23)	10,8 (2,6)
	3 døgn	3143 (424)	77,6 (14,0)	2,48 (0,36)	24,4 (5,4)

\* Tallene i parentes angiver spredningen; Leverens fedtprocent blev beregnet ud fra levertørstof (Leverfedtindhold (%) = 1,15 \* Levertørstof – 24,9 ( $R^2=0,97$ ) (Clausen & Sandbøl, 2005b)

Tabel 6. LSmeans værdier for den relative levervægt, lever fedt procent og pelsvægt, 2 x 20 brune hanner pr hold

Brune	Leverfedt procent	Relativ levervægt	Pelsnings vægt, g
23 Kontrol	20,7 (0,73) a	2,43 (0,06)	3427 (49) a
24 fodring x 3	17,6 (0,73) b	2,37 (0,06)	3251 (49) b
	0,004	NS	0,01
	<b>Leverfedt procent</b>	<b>Relativ levervægt</b>	<b>Pelsnings vægt, g</b>
Faste 1 døgn	11,8 (0,73) a	2,29 (0,06) b	3443 (49) a
Faste 3 døgn	26,5 (0,73) b	2,51 (0,06) a	3234 (49) b
	< 0,0001	0,009	0,004

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er forskel, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel mellem holdene

Leverfedtprocenten var højest hos dyr fodret en gang dagligt (kontrol) i forhold til 3 gange (tabel 6). Grunden til dette er ikke klart, men det kan skyldes at dyrene der var udtaget til organundersøgelse blev udtaget tilfældigt og uheldigvis var de udtagne hvalpe større i kontrolholdet end i forsøgsgruppen (tabel 5 og 6). Det er før vist at fede hvalpe har en højere grad af fedt i leveren end slanke dyr. Normal leverfedtprocent hos slanke og ikke fastede dyr, er omkring 5 %,

hvorimod fede og ikke fastede hvalpe har omkring 9 % fedt i leveren (Clausen, 2009; Clausen and Sandbøl, 2007). Der var signifikant størst leverfedtprocent efter dyrene havde været fastet i 3 døgn (tabel 5 og 6). En højere grad af fedt i leveren hos fastede dyr svarer til andre undersøgelser og især hvis meget fede dyr stopper med at æde, kan de udvikle ekstrem fedtinfiltration i leveren (Bjørnvad *et al.*, 2004; Clausen, 2007; Clausen, 1992; Clausen and Sandbøl, 2005;

Mustonen *et al.*, 2005; Rouvinen-Watt *et al.*, 2010).

Der var ikke forskel i dødsfaldprocenten mellem holdene, og der var ikke forskel mellem de sorte og brune hold. Der var problemer med lungebetændelse/influenza (H1N1) fra 13/10 til 18/11, både i sorte og brune dyr (tabel 7). Der blev observeret tilfælde af forstørret fedtlever i alle holdene.

## Konklusion

De sorte hvalpe der blev fodret tre gange dagligt åd mere og blev tungere ved pelsning, og der var en tendens til længere skind. Der var ikke forskel mellem hold for de brune hvalpe, de åd det samme i de to grupper og blev lige store. Der var ikke forskel i dyrenes sundhed mellem holdene. Den relative levervægt og leverens fedtprocent steg signifikant ved faste i 3 døgn.

Tabel 7. Dødsfald i hele perioden, i % af total antal hvalpe

	I alt døde	Lungebet. H1N1	Forstørret fedtlever	Blære/nyre- problemer
<b>Brune</b>				
23 Kontrol	4,4	0,7	0,4	0,1
24 fodring x 3	5,8	1,5	1,1	1,1
<b>Sorte</b>				
73 Kontrol	5,4	1,0	0,6	1,3
74 fodring x 3	5,8		0,3	0,3

## Referencer

Bjørnvad, C.R., Elnif, J., Sangild, P.T., 2004. Short term fasting induces intra-hepatic lipid accumulation and decreases intestinal mass without reduced brush-border enzyme activity in mink (*Mustela vison*) small intestine. J. Comp. Physiol. 174B, 625-632

Clausen, T. N., 2009. Fat and lean male mink at pelting. Organs and blood values. Annual Report 2008, Danish Fur Breeders Research Center, Holstebro, Denmark, 119-122, In Danish.

Clausen, T. N., 2007. Fasting mink kits fed different amounts of protein. Annual Report 2006, Danish Fur Breeders Research Center, Holstebro, Denmark, 151-154. In Danish.

Clausen, T.N., 1992. Investigations on the fat content in the liver macroscopic, chemically, with floating test and connection with blood ALAT content. Annual Report 1991, Danish Fur Breeders Investigation and Research

Company, A/S, Holstebro, Denmark, 261-265, In Danish.

Clausen, T.N., Sandbøl, P., 2007. Fasting of mink males after mating, and its influence on liver fat percent and blood ketone concentration. Annual Report 2006, Danish Fur Breeders Research Center, Holstebro, Denmark, 129-134, In Danish.

Clausen, T.N., Sandbøl, P., 2005. Fasting of mink kits fed different feed rations and its effect on liver fat content, plasma metabolites and enzymes. NJF seminar nr 337, pp. 5, Uppsala, Oct. 5-7.

Clausen, T. N., Sandbøl, P. 2005b. Sammenhæng mellem leverfedt og tørstof hos mink (*Mustela Vison*). Faglig Årsberetning 2004, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark, 169-171.

Mustonen, A-M., Pyykönen, T., Paakkonen, T., Ryökkynen, A., Asikainen, J., Aho, J., Mononen, J.,

Nieminen, P., 2005. Adaptions to fasting in the American mink (*Mustela vison*): carbohydrate and lipid metabolism. Comp. Biochem. Physiol. 140A, 195-202.

Rouvinen-Watt, K., Mustonen, A.M., Conway, R., Pal, C., Harris, L., Saarela, S., Strandberg, U., Nieminen, P., 2010.

Rapid development of fasting-induced hepatic lipidosis in the American mink (*Neovison vison*): Effects of food deprivation and re-alimentation on body fat depots, tissue fatty acid profiles, hematology and endocrinology. Lipids 45(2), 111-128.



# Organiske mineraler i vækstperioden til mink

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

Gennem de sidste år er flere danske fodercentraler begyndt at anvende flere organiske mineraler i minkfoder på grund af deres højere biotilgængelighed sammenlignet med uorganiske mineraler. I et vækstforsøg sammenlignede vi organiske mineraler og uorganiske mineraler i forskellige niveauer fra den nuværende anbefaling til ingen tilsætning på skindegenskaberne hos brune mink. Resultaterne viste ingen signifikant forskel i pelsningsvægt, skindlængde, skindkvalitet, farve eller renhed. Derudover viste undersøgelsen, at der er nok af de fleste mineraler i dansk minkfoder med de nuværende råvarer.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Organiske mineraler i vækstperioden til mink. Faglig Årsberetning 2015, 53-60. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

During the last years some feed kitchens in Denmark have started to use more organic minerals in mink feed because of higher bioavailability than the normally used inorganic forms. In a growth experiment we compared performance of organic minerals and inorganic minerals in different levels ranging from current recommendation to no extra supplementation on skin traits in brown mink. Results showed no significant difference in weight at pelting, skin length, skin quality, colour or purity. Moreover the study demonstrated sufficient levels of most minerals in Danish mink feed to fulfill minks needs with use of current raw materials.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Organic minerals in the growth period for mink. Annual Report 2015, 53-60. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Mineral supplementing, growing period, pelt quality, body weight

## Indledning

Foder suppleres med mineraler for at forebygge mangel og sikre optimal vækst og udvikling (Nollet *et al.* 2007). De ældre undersøgelser af behovet for mineraler i foderet er undersøgt efter tilsætning af uorganiske mineralforbindelser.

Behov for Zink (Zn) til hvalpe er sat til 60 ppm af tørstof (Tauson *et al.*, 1992), behov for kobber (Cu) er anslået til enten 4,5-6,0 ppm (Glem-Hansen, 1978, pers. medl.) eller 30-50 ppm af tørstof (Treuthardt, 1992). Zn mangel giver nedsat tilvækst (Mejborn, 1986), ligeledes angives hud og hår forandringer (Tauson *et al.*, 1992). Cu har betydning for dannelsen af melanin der er et mørkt pigment i håret, en mangel ville således give lysere skind. Aulerich *et al.* (1982) melder om mørkere skind ved tilsætning af 100-200 ppm Cu til foderet (som CuSO<sub>4</sub>; 35 % tørstof; 290-570 ppm i tørfoder), men større hvalpe død og mindre kuldvægt, ved lang tids

anvendelse af disse mængder. Brandt (1983) fandt tegn på Cu forgiftning (dødsfald hos halvdelen) ved 300 ppm i vådfoder.

Jern (Fe) behovet angives ifølge NRC (1982) til 20-90 ppm af tørstof, hvis der ikke er inhiberende faktorer i foderet, og ifølge Treuthardt (1992) til 300-400 ppm af tørstof, det er dog usikkert, hvilken jernkilde han har anvendt. Fe mangel giver dårlig tilvækst og lys underuld (Tauson *et al.*, 1992). Med hensyn til selen (Se) så er behovet ikke helt fastlagt, det antages at der er nok i almindeligt foder. Treuthardt (1992) anser således 0,6 – 0,9 ppm i tørfoder som tilstrækkeligt. Brandt *et al.* (1990) fandt ingen effekt af selentilskud i foder til mink hvalpe og konkluderede at 0,12 mg/kg foder (0,3 ppm i tørstof v. 40 % tørstof) var tilstrækkeligt, men at 0,02 ppm er for lidt (Brandt, 1989). Selen indgår som en vigtig bestanddel af glutationsperoxidase-systemet, der sammen med vitamin E har



betydning for cellemembranerne og modvirker oxidativ stress i dyrene (Bondi, 1987). For høje mængder selen er giftigt, for andre dyrearter angives at Se er toksisk ved 3 – 5 ppm (Bondi, 1987). Der tilsættes 0,2 ppm til færdigfoderet i vækstperioden i Danmark.

Gennem de seneste år er nogle fodercentraler begyndt at bruge organiske mineraler til minkfoder i stedet for de normalt anvendte uorganiske mineraler. Organiske mineraler er naturlige mineral-kilder og de har en bedre biotilgængelighed end uorganiske mineraler. Derudover ses ikke den samme interaktion til andre næringsstoffer, f.eks. calcium, vitaminer og fedtstoffer. Prisen på organiske mineraler er højere end på de uorganiske, hvorfor det er vigtigt at vurdere, om det er en kosteffektiv erstatning af de uorganiske mineraler og at vurdere, hvorvidt man eventuelt kan reducere dosis i foderet. De organiske mineralforbindelser kaldes chelate mineralforbindelser (chelate = solidt fastgjort). Chelate forbindelser er komplekser mellem metalionen og en ligand (en binder), i dette tilfælde en aminosyre. Organisk selen fremstilles dog på en anden måde. En højt koncentration af selen tilsættes et vækstmedie, hvori der gror en svamp (*Saccharomyces cerevisiae*). Svampen danner bl.a. methionin og indsætter Se i nogle af methioninmolekylerne i stedet for svovl (S). Der dannes således L-selenomethionin i stedet for L-methionin (Schrauzer, 2006), L-selenomethionin optages og omsættes i dyret som almindeligt L-methionin.

Undersøgelser over hvorvidt et ekstra tilskud af chelate mineraler havde en gavnlig effekt for skindenes farve ved pelsning blev afprøvet i 2008 og 2009. I vækstperioden 2008 blev der tilsat jern (Fe), kobber (Cu) og zink (Zn) (Clausen & Sandbøl, 2010) til forsøgsfoderet. Det gav

en lidt bedre tilvækst, men havde ingen signifikant effekt på skindenes længde, kvalitet eller farve. Farven var dog mørkest ved den højeste iblanding (ikke signifikant), men der var en tendens ( $p=0,08$ ) til en dårligere kvalitet ved det højeste mineralindhold. Foderets analyserede indhold af Fe (ppm i tørstof) var i området 294 til 373 ppm, det analyserede indhold af Cu var i området 6,7 til 37,5 ppm i tørstof og det analyserede indhold af Zn (ppm i tørstof) var i området 80 til 180. I vækstperioden 2009 blev Fe og Cu afprøvet og der fandtes ingen signifikant effekt på skindenes farve (Clausen & Sandbøl, 2011). Foderets analyserede indhold af Fe (ppm i tørstof) var i området 480 til 607 ppm, det analyserede indhold af Cu var i området 13,8 til 52,5 ppm i tørstof.

Formålet med undersøgelsen var at vurdere anvendelsen af organiske mineraler i sammenlignelige og lavere mængde end uorganiske mineraler i vækstperioden.

### Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 6 hold brune mink á 135 han og tæve hvalpe opstaldet parvis. Forsøgs-opstillingen ses af tabel 1. Der findes flere forskellige fabrikater af organiske mineraler, i denne undersøgelse blev anvendt 2 forskellige. Type A var fra Alltech (chelate baseret på aminosyre-hydrat; Bioplex Cu, Bioplex Zn og Sel-Plex 2300), og type B var fra Vilomix (chelate baseret på glycin).

Hvalpene blev sat i forsøgshold i begyndelsen af juli og forsøgsfodringen startede 15. juli. Forsøgsholdenes fodersammensætning (tabel 2) blev kontrolleret ved analyse af protein, fedt, tørstof og aske jævnlige gennem perioden. Samleprøver af foderet for de relevante delperioder blev analyseret for aminosyreindhold.

Tabel 1. Forsøgsopstilling til brune mink vækstperioden 2014

Hold	Antal hanner	Mineraler *	Type / Produkt
K100	135	100 %	Uorganiske
K50	135	50 %	Uorganiske
K0	135	0 %	-
A100	135	100 %	organiske / A
A50	135	50 %	organiske / A
A25	135	25 %	organiske / A
B50	135	50 %	organiske / B

\* af anbefalet niveau

Der blev fremstillet specifikke vitamin og mineralblandinger med det ønskede indhold til samtlige hold, disse blandinger blev ved forsøgets afslutning analyseret for mineralindhold. Af disse blandinger blev anvendt 0,2 % i foderet. Som

udgangspunkt blev der anvendt de niveauer af mineraltilsætning der anbefales til Danske Fodercentraler (15700 ppm Zn; 1280 ppm Cu; 100 ppm Se) (Lassén, 2014).

Tabel 2. Foderplaner (gennem perioden blev planerne justeret når der kom råvarer med en ændret sammensætning)

	15-jul *	10-aug #	25-sep □
Fiskeaffald 3-5 % fedt	8	5	5
Industrifisk 8-12 % fedt	30	32	32
Fjerkræaffald Løgstør	15		
Affedtet fjerkræ		15	15
Ensilage Fishpro	6	6	6
Byg + Hvede	11,3	14,1	14,5
Blodmel	3		
Hæmoglobin		1,51	1,93
Kartoffelprotein	2,82	2,84	1,65
Majsgluten	3	3	3
Soyaolie	2,33	2,53	5,78
Svinefedt	4,66	5,07	2,44
DL-methionin			0,067
Eddikesyre	0,2	0,2	
Vitaminblanding	0,2	0,2	0,2
Vand	13,7	12,7	12,0
Plantal			
Tørstof	42	42	42
Aske, %	1,9	1,8	1,7
Energi, kcal/100 g	203	202	205
Energifordeling P:F:K	32:53:15	30:52:18	28:54:18
FKp §	82,8	83,7	83,8
FKf §	93,5	93,0	92,9
FKk §	68,3	70,4	70,1
Analysetal			
Tørstof, %	39	39	41,4
Energi, kcal/100 g	187	188	202
Energifordeling, P:F:K	32:52:16	30:51:19	27:54:19

\* Ændret fra blodmel til hæmoglobinmel 1/8; # justeret med fedt 25/8; □ justeret med fedt 14/10 og yderligere med kartoffelprotein 4/11; § fordøjeligheds kvotienter for hhv. protein, fedt og kulhydrat; 0,16 g fordøjelig methionin/100 kcal blev anvendt i hele perioden; Der blev anvendt DL-methionin og der regnes kun med 50 % udnyttelse; Mindstekrav til aminosyrer fulgte anbefalinger til fodercentraler 2015 (Lassén, 2014)

Samtlige hanhvalpe blev vejet efter udsætning (8/7), medio august (12/8), i september (22/9) og ved pelsning. Efter pelsning blev skindene længdemålt og der blev foretaget en kvalitetsvurdering af hanskindene. Farve/renhed blev vurderet på Kopenhagen Fur, efter deres skala med farve fra xpale = 1 til xxdark = 6 og renhed fra 1 = mest blå til 4 = mest røde.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Procedurene GLM (ss4), LSMEANS / PDIFF blev anvendes med 5 % som signifikansniveau ved beregninger over vægt og længde. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Ved skindkvalitet, farve og renhed blev anvendt en non-parametrisk test (GENMOD). Silkethed, fyldighed og metallic blev analyseret med proceduren PROBIT eller  $X^2$ .

## Resultater og diskussion

Det gennemsnitlige analyserede indhold i foderblandingerne passede pænt med de planlagte værdier (tabel 2). Foderets indhold af phenylalanin (phe) og tyrosin (tyr) ses af tabel 3, disse aminosyrer har betydning for pelsens farve (Clausen & Sandbøl, 2010). Tidligere undersøgelser har givet indikationer på, at det kan være gavnligt for den mørke farve hos sorte mink, hvis phe + tyr hæves til 0,55 g fordøjeligt/100 kcal i perioden 10/8–1/10, derefter er 0,47 tilstrækkeligt (Clausen & Larsen, 2012). Hos brune mink er der en tendens til lysere farve ved lavt phe + tyr (Clausen & Sandbøl, 2010). I denne undersøgelse er kravene overholdt (på nær de sidste 5 dage i september).

Tabel 3. Aminosyrer (g fordøjelige/100 kcal) analyseresultater samt planlagte værdier

	15/7-10/8		10/8-25/9		25/9 - pelsn	
	analyse	plan	analyse	plan	analyse	plan
phe	0,35	0,38	0,34	0,35	0,32	0,32
tyr	0,22	0,28	0,21	0,26	0,20	0,23
phe + tyr	0,57	0,66	0,55	0,61	0,52	0,55

Mineralblandingerne planlagte og analyserede indhold fremgår af tabel 4. Den største afvigelse blev set i B50 hvor Cu var mere end 65 % over det deklarerede indhold. Laveste afvigelse var for Cu i 34 A100 på 0,4 %. Fe

indholdet skulle være det samme i alle hold og er medtaget som kontrol på iblandingen, den varierede ligeledes meget. Det er åbenbart meget vanskeligt at dosere mineraler korrekt.

Tabel 4. Mineralblandingerne planlagte og analyserede indhold af mineraler i mg / kg

Hold	Zn		Cu		Se		Fe	
	Beregnet	Analyseret	Beregnet	Analyseret	Beregnet	Analyseret	Beregnet	Analyseret
K100	15700	12010	1280	1247	100	76	35000	33710
K50	7850	5863	640	506	50	38	35000	32600
K0	0	610	0	54	0	1,2	35000	25630
A100	15700	10950	1280	1285	100	65	35000	18140
A50	7850	5753	640	578	50	31	35000	19130
A25	3925	3846	320	375	25	24	35000	16480
B50 *	7850	7553	640	1061	50	70	0	292

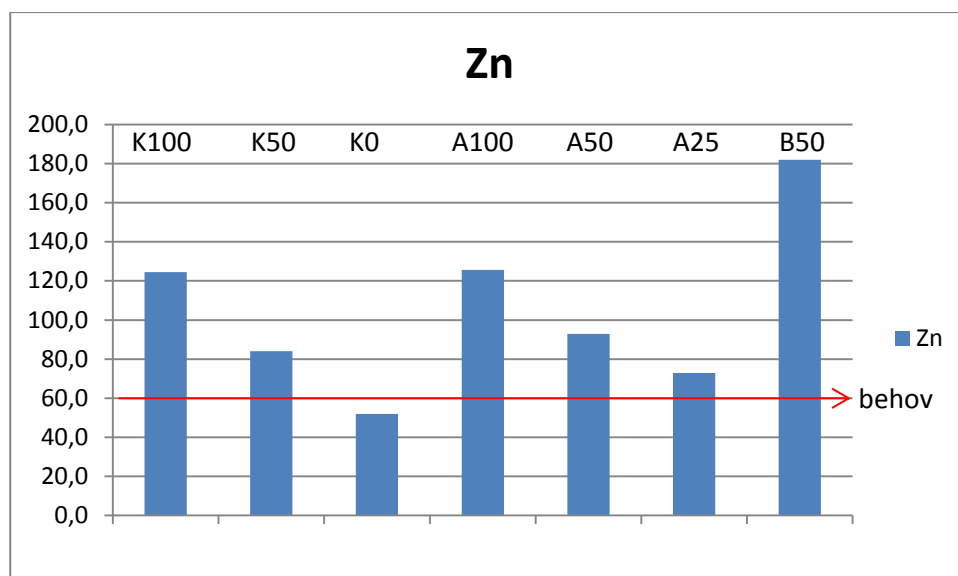
\* Fik dertil en vitaminblanding med Fe (det skulle være blanding 31 K0, men blev ved en fejl blanding 34 A100)

Foderet anvendt til undersøgelsen var fremstillet af råvarer der anvendes til minkfoder i Danmark. Det analyserede mineralindhold ses af tabel 5, og

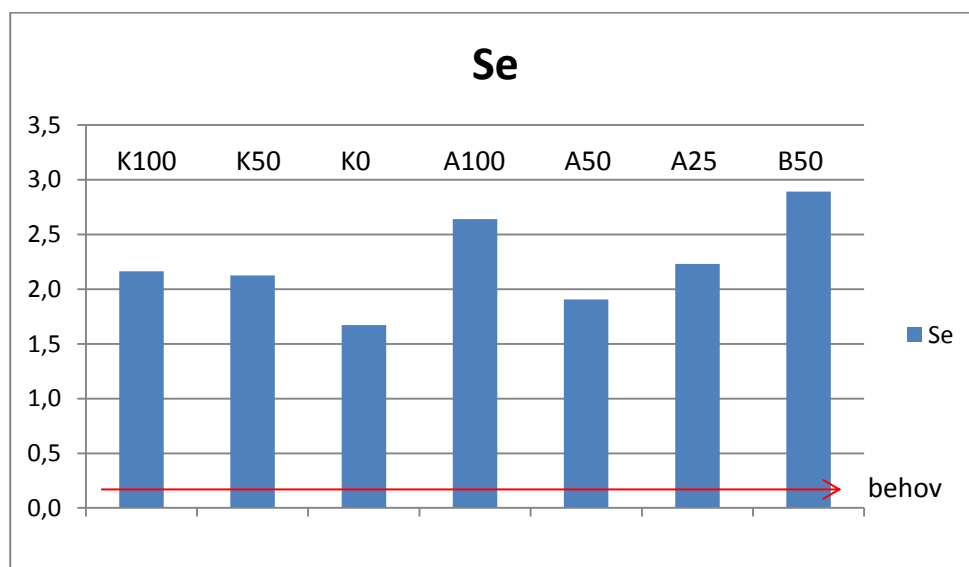
gennemsnit for holdene gennem hele perioden ses af figur 1–4. Alle mineraler var over behovet, på nær Zn i det hold hvor der ikke blev tilsat mineraler (K0).

Tabel 5. Analyseret mineral indhold i foderet (ppm i tørstof)

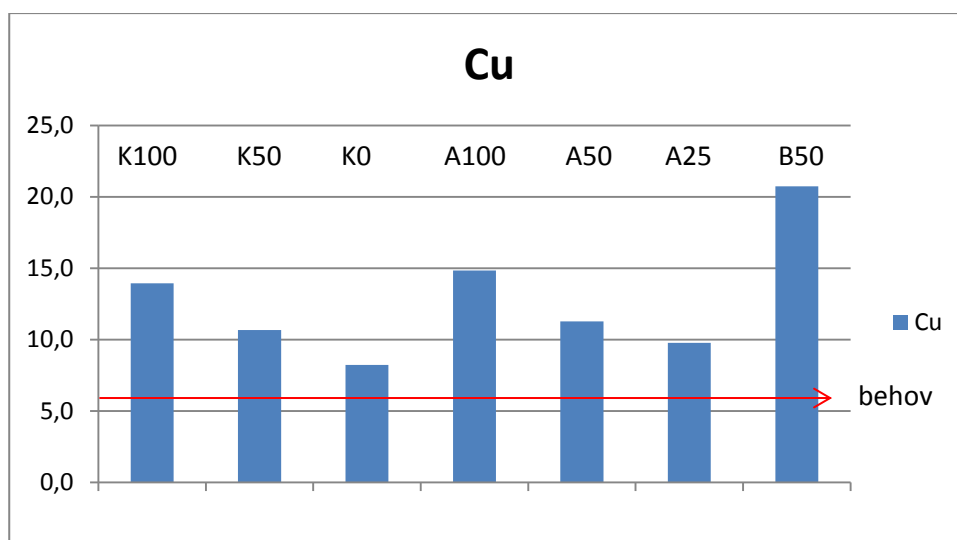
Hold	Zn			Cu			Se			Fe		
	157/- 9/8	10/8- 24/9	25/9-p	157/- 9/8	10/8- 24/9	25/9-p	157/- 9/8	10/8- 24/9	25/9-p	157/- 9/8	10/8- 24/9	25/9-p
K100	120,0	124,5	128,7	14,0	14,4	13,4	3,1	0,8	2,6	497,8	376,0	394,5
K50	77,6	91,1	83,5	10,5	11,1	10,4	2,4	2,2	1,7	475,2	404,0	396,9
K0	48,2	50,6	56,9	7,7	9,2	7,8	1,7	1,5	1,8	477,0	380,2	390,9
A100	121,7	122,6	132,8	14,5	15,4	14,6	2,9	2,8	2,3	467,9	375,5	390,9
A50	99,0	89,2	90,3	11,4	12,0	10,4	2,3	1,7	1,8	491,3	383,9	368,6
A25	61,2	75,8	81,6	9,3	10,6	9,5	2,9	1,9	1,9	445,6	384,1	405,8
B50	155,0	192,2	198,3	20,1	21,6	20,5	2,8	2,7	3,2	453,9	391,0	401,9



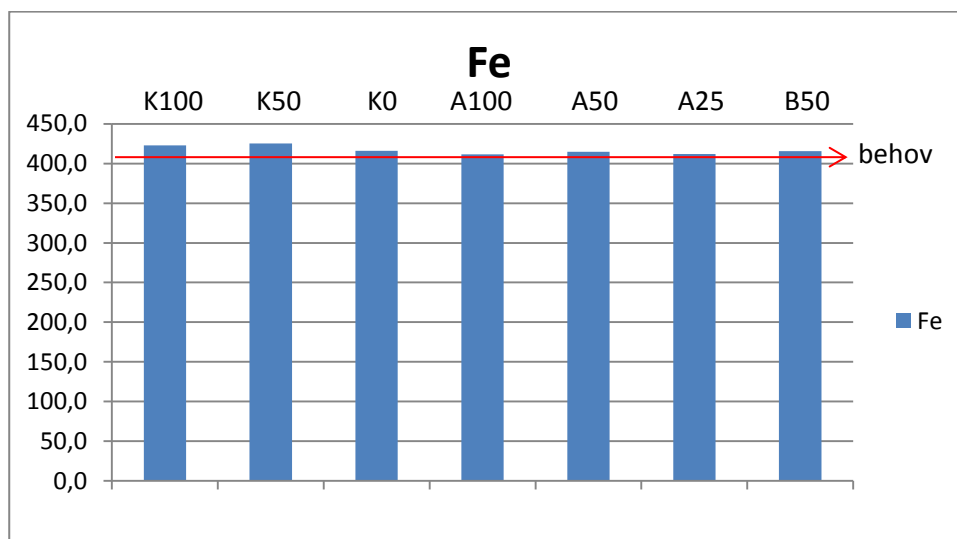
Figur 1. Zn indhold i færdigfoderet (ppm i tørstof)



Figur 2. Se indhold i færdigfoderet (ppm i tørstof)



Figur 3. Cu indhold i færdigfoderet (ppm i tørstof)



Figur 4. Fe indhold i færdigfoderet (ppm i tørstof)

Der var signifikant forskel i hanhvalpe-vægtene ved udsætning, og der var forskel i tilvæksten fra udsætning til medio august (tabel 6). Hvalpe der fik 100 % organiske mineraler A100 havde den laveste tilvækst og hvalpe der fik kontrolfoder havde den største. I september var der ligeledes forskel i vægten, men nu var det hvalpe der fik det laveste niveau af organiske mineraler type A (25) der havde den største vægt. Dernæst var det hvalpe der fik foder uden mineraltilsætning der var størst, og kontrolholdet og holdet med højeste niveau af organiske mineraler type A der var mindst. Ved pelsning var der ikke forskel i hvalpenes vægt.

Der var ingen forskel i skindlængderne (tabel 7) og der var ingen forskel i nogen af kvalitetsparametrene eller i farve og renhed (tabel 7 og 8). Niveauerne af mineralindholdet i foderet var for alle hold over det der anses for behovet, på nær Zn i hold K0 (figur 1). Zn-mangel kan bevirke nedsat vækst og hårforandringer (Mejborn, 1986; Tauson *et al.*, 1992), det ser ikke ud til at være tilfældet i denne undersøgelse. I tidligere undersøgelser af et ekstra tilskud af chelate mineraler, blev der heller ikke fundet en effekt på skindstørrelse, kvalitet og farve (Clausen & Sandbøl, 2010; 2011).

Tabel 6. Vægt og tilvækst for hanhvalpe gennem vækstperioden

		Vægt 8/7 g	Vægt 12/8 g	Tilvækst udsætning til august, g	Vægt 22/9 g	Vægt pelsning g
36	K100	1127 (166) c	2069 (185)	938 (130) a	3025 (290) c	3632 (402)
29	K50	1141 (160) bc	2035 (204)	898 (118) bc	3051 (321) bc	3589 (435)
31	K0	1166 (171) ab	2081 (214)	915 (114) ab	3100 (330) ab	3655 (437)
34	A100	1158 (148) ab	2034 (187)	876 (100) c	3014 (304) c	3566 (380)
30	A50	1148 (152) abc	2058 (222)	912 (129) ab	3055 (330) bc	3605 (421)
32	A25	1162 (164) a	2088 (220)	921 (122) ab	3155 (333) a	3660 (447)
33	B50	1165 (145) a	2071 (203)	907 (131) b	3034 (299) bc	3652 (402)
		0,05	NS (0,08)	0,003	0,001	NS

NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er forskel; tallene i parentes er spredningen

Tabel 7. Skindlængde og skindegenskaber hos hanhvalpe

Hold		Skindlængde, cm	Kvalitet *	Silkede, %	Fylde		
					Flade	Normale	Fyldige
36	K100	95,7 (4,1)	6,2 (2,6)	15,4	19,2	71,5	9,3
29	K50	95,7 (4,0)	6,7 (2,4)	17,6	13,6	76,0	10,4
30	A50	95,5 (4,3)	6,5 (2,4)	18,3	9,2	76,3	14,5
31	K0	95,6 (4,1)	6,3 (2,5)	15,3	9,2	77,8	13,0
32	A25	96,1 (4,5)	6,6 (2,7)	21,1	12,5	74,2	13,3
33	B50	96,1 (4,1)	6,3 (2,5)	14,2	13,4	74,8	11,8
34	A100	95,6 (4,0)	5,9 (2,5)	15,8	15,7	75,6	8,7
		NS	NS	NS	NS		

\* Skala fra 1 – 12 med 12 som bedst; tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er forskel, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel mellem holdene

Tabel 8. Farve renhed hos hanhvalpe

Hold		Farve	Renhed
36	K100	3,8 (0,9)	2,1 (0,7)
29	K50	4,0 (0,9)	2,1 (0,7)
30	A50	3,9 (0,7)	2,1 (0,8)
31	K0	4,0 (0,8)	2,0 (0,7)
32	A25	3,8 (0,8)	2,0 (0,7)
33	B50	3,9 (0,9)	2,2 (0,7)
34	A100	4,1 (0,8)	2,1 (0,7)
		NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er forskel, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel mellem holdene; Farve blev vurderet efter København Furs skala med xpale = 1 og xxdark = 6; renhed blev vurderet efter København Furs skala med 1 = mest blå og 4 = mest røde

## Konklusion

Ud fra disse resultater ser det ikke ud til, at der er en gavnlig effekt af at tilsætte mineraler, så længe fodercentralerne har adgang til gode råvarer. Der blev ikke set nogen gavnlig effekt af at udskifte uorganiske mineraler med organiske.

Det anbefales at råvarerne analyseres for mineralindhold og at man derudfra vurderer hvilke tilsætningsniveauer der eventuelt skal anvendes i foderet.

Dødsfald gennem perioden var på et normalt lavt niveau (tabel 9), selvom der var lidt influenza H1N1 i nogle af holdene.

Tabel 9. Dødsfald gennem forsøgsperioden, hanner og tæver

Hold		Pct døde, total	Lungebet. H1N1
36	K100	1,1	0,4
29	K50	1,8	
30	A50	0,7	
31	K0	1,1	
32	A25	0,4	
33	B50	1,1	0,7
34	A100	2,6	0,7

## Referencer

Aleurich, R.J., Ringer, R.K., Bleavins, M.R. & Napolitano, A., 1982. Effects of supplemental Copper on non growth, reproductive performance and kit survival of standard dark mink and the acute toxicity of copper to mink. Journal of animal science 55, 337-343.

- Bondi, A.A., 1987. The nutritional importance of minerals. In *Animal Nutrition*, John Wiley & Sons, Chichester, 172-216.
- Brandt, A., 1989. *Haematology and clinical chemistry of fur animals*. ISBN 87-981959-8-0, Scientifur, 159pp
- Brandt, A., 1983. Effect of dietary copper and zink on the haematology of male pastel mink kits. A pilot investigation. *Scientifur*, 7, 61-65.
- Brandt, A., Wolstrup, C., Krogh Nielsen, T., 1990. The effect of dietary dl-alpha tocopherol acetat, sodium selenite and polyunsaturated fatty acids in mink (*Mustela vison*) *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* Volume 64, Issue 1-5, s. 280-288
- Clausen, T. N. & Larsen, P.F., 2012. Fortsatte undersøgelser af betydningen af phenylalanin og tyrosin for vækst og pelsfarve hos sorte mink. *Faglig Årsberetning for København Forskning* 2011, 64 – 69. København Forskning, Agro Food Park 15, 8200 Aarhus N
- Clausen, T.N. & Sandbøl, P. 2010. Effekten af aminosyrerne phenylalanin (phe) og tyrosin (tyr), samt chelateret jern, kobber og zink) for pelsfarven hos mink (*Mustela vison*). *Faglig Årsberetning* 2009, 57-65, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.
- Clausen, T. N. & Sandbøl, P. 2010. Undersøgelse af betydningen af aminosyrerne phenylalanin (phe) og tyrosin (tyr), samt mineralerne jern (Fe), kobber (Cu) og zink (Zn) for pelsfarven hos sorte og brune mink. *Faglig Årsberetning* 2009, 57 - 65, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.
- Clausen, T. N. & Sandbøl, P. 2011. Fortsatte undersøgelse af betydningen af aminosyrerne phenylalanin (phe) og tyrosin (tyr), samt mineralerne jern (Fe) og kobber (Cu) for pelsfarven hos sorte mink. *Faglig Årsberetning* 2010, 67 - 71, Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.
- Glem-Hansen, 1978, pers. medl
- Lassén, T.M., 2014. *Anbefaling - gældende – minkfoders sammensætning* 2014. Intern Rapport, København Rådgivning 2013
- Mejborn, H., 1986. Zinkomsætning hos mink. Ph. D.-thesis. Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, 128 pp.
- Nollet, L., van der Klis, J.D., Lensing, M. & Spring, P. (2007). The effect of replacing inorganic with organic trace minerals in broiler diets on productive performance and mineral excretion. *Journal of Applied Poultry Research* 16, 592-597.
- NRC, 1982. *Nutrient Requirements of Mink and Foxes*, 2. Ed., National Academy Press, Washington, D.C.
- Schrauzer, G.N., 2006. Selenium yeast: Composition, quality, analysis, *Pure Appl. Chem.*, Vol. 78, No. 1, pp. 105–109.
- Tauson, A.H., Olafsson, B.L., Elnif, J., Treuthardt, J. & Ahlstrøm, Ø., 1992. Minkens och Rävens mineraldönsörjning. NJF rapport nr. 79. Kbh 1992.
- Treuthardt, J., 1992. Hematology, antioxidative trace elements, the related enzyme activities and vitamin E in growing mink on normal and anemiogenic fish feeding. *Acta Academiae Aboensis, Serie B, Mathematica et physica*, vol 52 (4). Diss. Åbo Akademi, Åbo, Finland, 138pp.

# Reduceret protein til minkhvalpe i vækst og pelssætningsperioden

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

For fortsat at undersøge mulighederne for at optimere foderets proteinindhold er det nødvendigt kontinuerligt at undersøge aminosyre og proteinbehovet i vækst og pelssætnings perioden, samt at få klarlagt om de samme proteinbehov gør sig gældende til sorte som til brune mink.

I denne undersøgelse blev der anvendt 3 hold sorte mink á 150 hanner og tæver, samt 3 hold brune mink á 135 hanner og tæver. Proteintildelingen blev varieret mellem 32 og 24 OE<sub>p</sub>, en af grupperne svarede til anbefalingerne til fodercentralerne.

Holdet der fik et proteinindhold i foderet svarende til det der anbefales til fodercentralerne i 2014 viste ikke signifikant forskel til kontrolholdene. Laveste proteintildeling gav lavere pelsningsvægt og lysere farve i de sorte. Den analyserede proteinfordøjelighed var lavere end planlagt, hvorfor proteinniveauet reelt set har været på et noget lavere niveau i forsøget.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Reduceret protein til minkhvalpe i vækst og pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2015, 61-68. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

In attempt to lower protein content in mink feed it is necessary continuously to investigate the need of protein and amino acids in the growing and pelting period. It is also necessary to find out whether black and brown mink has the same need of protein.

In this investigation we used three groups of black mink with 150 males and females and three groups of brown mink with 135 male and female mink. Protein content was varied from 32 to 24 ME<sub>p</sub>. One of the groups corresponded to what was advised to the Danish feed kitchens in 2014. The groups with the advised amount of protein in the feed was not significantly different from the control group. The lowest protein content resulted in lower weight at pelting and a lighter color in the black group. The analyzed protein digestibility was lower than planned and therefore the protein content was actually at a very low level in this study.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Reduced protein to mink kits in the growing-furring period. Annual Report 2015, 61-68. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Protein, black, brown

## Baggrund

Det er i tidligere forsøg vist at 32 OE<sub>p</sub> i juli giver den bedste tilvækst i juli, og at 29 OE<sub>p</sub> i juli ikke reducerer skindstørrelsen til pelsning, når bare kulhydrat niveauet ikke er for højt (højst 18 OE<sub>k</sub>) (Clausen *et al.*, 2008). Resultater med brune mink fra vækstperioden 2010 (Clausen *et al.*, 2012) viste at 28 OE<sub>p</sub> fra medio juli til medio august og dernæst 24 OE<sub>p</sub> frem til pelsning gav lige så store skind som kontrolholdet (32 OE<sub>p</sub>), men en lidt reduceret skindkvalitet med flere flade og færre fyldige skind end kontrolholdet. Effekten af lav protein i den tidlige vækstperiode kan være en forstyrrelse i dannelsen af anlæg til dækhår, samt

underuldens længde og fiber tykkelse (Rasmussen & Børsting, 1997).

Resultaterne fra 2010 (28 OE<sub>p</sub> fra medio juli til medio august og dernæst 24 OE<sub>p</sub>) blev bekræftet i vækstperioden 2011 både for brune og sorte mink (Clausen *et al.*, 2013). Dog således at skindene ved reduceret protein i de brune var signifikant længere end i kontrolholdet, mens der ikke var signifikant lavere skindkvalitet, hvorimod det forholdt sig omvendt for den sorte gruppe, - der var ikke forskel i skindlængden, men kvaliteten var dårligere. Skindenes fylde i de brune var påvirket af proteinniveauet. Der var således en del flere fyldige og færre flade skind i kontrolholdet frem for lavprotein holdene.



I 2012 (28 – 32 OE<sub>p</sub> i juli) var der ikke forskel i skindlængden eller i frekvensen af flade og fyldige skind, hverken i sorte eller brune mink, men kvaliteten var igen påvirket negativ af lavt protein fra medio august (24 – 26 OE<sub>p</sub>) (Clausen & Larsen, 2014). I 2010 og 2011 (Clausen *et al.*, 2012; 2013) var der imidlertid i forsøgsopsættet i 24 OE<sub>p</sub> blandingerne en reduktion i visse aminosyrer i forhold til anbefalinger til fodercentralerne (Lassén, 2014) (2010: met, his, phe, leu, ile, og val; 2011: his, leu, ile, val). Hvorvidt det er årsagen til de lavere kvaliteter kan ikke udelukkes. I vækstperioden 2012 (Clausen & Larsen, 2014) blev der tilsat aminosyrer op til anbefalingerne i hold med 24 OE<sub>p</sub>. I de sorte mink så det ud til at kunne forbedre kvaliteten i forhold til ingen tilsætning, hvorimod det ikke var tilfældet i de brune (Clausen & Larsen, 2014).

Tidligere undersøgelser har vist, at hvis vi først sænker andelen af energien fra protein fra medio september til 25 OE<sub>p</sub>, kan det gøres uden negative konsekvenser for skindlængde og kvalitet (Hejlesen & Clausen, 1999; 2000; 2001), dog i nogle tilfælde med en tendens til en lidt reduceret kvalitet (Hejlesen *et al.*, 1998; Clausen *et al.*, 2006). De bedste værdier blev fundet ved 18 OE<sub>k</sub>, derefter sås faldende kvalitet med stigende kulhydrat.

Undersøgelserne af protein niveauer til minkhvalpe i vækstperioden 2013 (32 OE<sub>p</sub> i juli, 26 – 32 OE<sub>p</sub> fra medio august, 24 – 32 OE<sub>p</sub> fra 25. september) (Clausen & Larsen, 2015), gav ikke entydige resultater. Der var ikke statistisk sikker forskel mellem holdene, men en overordnet holdvurdering indikerede, at der var lidt dårligere uld og hårkvalitet ved de reducerede niveauer.

Tilsætning af forskellige stoffer (carnitin, E-vit, B-vit, Cholinclorid og glukose) i september til foder med meget lavt

proteinindhold (20 OE<sub>p</sub> fra august), var ikke i stand til at forhindre fedtlever (Damgaard *et al.*, 2014; Clausen & Larsen, 2014). En ændring af foderet til fodercentralfoder fik problemerne til at ophøre, og ved pelsning, 25 dage efter foderændring, var levernes fedtprocent på samme niveau som kontrolholdet (Damgaard *et al.*, 2014). Ligeledes så det heller ikke ud til at tilsætning af taurin, Immunosupport, Hepator og FLS liquid til foder med 22 OE<sub>p</sub> fra 10. august (Clausen & Larsen, 2015), havde en nævneværdig effekt. Der var tendens til øget fedt i leveren i forsøgsholdene frem for kontrolholdet og stadig dødsfald som følge af fedtlever i de fleste af grupperne. Lav proteinindhold fra 10/8 til pelsning, havde ingen betydning for dyrenes evne til at danne antistoffer mod virus enterittis (Damgaard *et al.*, 2015) og havde ingen betydning for sårhelingen (Jespersen *et al.*, submitted).

For fortsat at undersøge mulighederne for at optimere foderets proteinindhold er det nødvendigt fortsat at undersøge aminosyre- og proteinbehovet i vækstperioden, samt at få klarlagt om de samme proteinbehov gør sig gældende til sorte som til brune mink.

### Materiale og metoder

Der blev anvendt 3 hold sorte mink á 150 hanner og tæver, samt 3 hold brune mink á 135 hanner og tæver. Forsøgsopstillingen ses af tabel 1.

D. 15/7 var der 32 OE<sub>p</sub> i foderet til alle hold. Kontrolholdet i begge farvetyper (K2, hold 20 og 70) fik 32 OE<sub>p</sub> til 10/8, dernæst 30 OE<sub>p</sub> til 25/9 hvorefter de fik 28 OE<sub>p</sub> til pelsning. To hold (hold 21 og 71) blev reduceret i protein fra 10/8 til 27 OE<sub>p</sub> og yderligere til 24 OE<sub>p</sub> fra 25/9. Yderligere blev et hold i hver farvetype (hold 22 og 72) fodret i henhold til anbefalinger til fodercentralerne i 2014 (32 OE<sub>p</sub> indtil 10/8, dernæst 27 OE<sub>p</sub> til 25/9 og dernæst 26 OE<sub>p</sub> til pelsning).

Råvarerne der indgik i foderet blev analyseret før forsøgsstart, forsøgs-holdenes fodersammensætning (tabel 2) blev kontrolleret ved analyse af protein, fedt, tørstof og aske jævnlgt gennem perioden. På samleprøver af foderet for

de relevante delperioder blev analyseret for aminosyreindhold. For at reducere store udsving i fedtet, blev skiftet til affedtet fjerkræ 10/8. Der blev udført fordøjelighedsforsøg med de 3 foderblandinger fremstillet i oktober.

**Tabel 1. Forsøgsopstilling til sorte (70 - 72) og brune (20 - 22) vækstperioden 2014, andelen af omsættelig energi fra protein, fedt og kulhydrat.**

Hold	Antal hanner	Start niveau	15/7 - 9/8	10/8 - 24/9	25/9 - pelsning
<b>Sorte</b>					
70 K2	150	40:45:15	32:53:15	30:52:18	28:54:18
71 LP	150		32:53:15	27:55:18	24:58:18
72 FC	150		32:53:15	27:55:18	26:56:18
<b>Brune</b>					
20 K2	135		32:53:15	30:52:18	28:54:18
21 LP	135		32:53:15	27:55:18	24:58:18
22 FC	135		32:53:15	27:55:18	26:56:18

(gradvis overgang fra fodercentral foder til forsøgsfoder i perioden 1/7 til 15/7)

**Tabel 2. Foderplaner (gennem perioden blev planerne justeret når der kom råvarer med en ændret sammensætning)**

	15. juli - 9. aug. *	10. aug. - 24. sep. #	10. aug. - 24. sep. #	25. sep. - pelsning □	25. sep. - pelsning □	25. sep. - pelsning□
<b>Hold</b>	<b>alle</b>	<b>20, 70</b>	<b>21, 22, 71, 72</b>	<b>20, 70</b>	<b>21, 71</b>	<b>22, 72</b>
Fiskeaffald 3-5 % fedt	8	5	5	5	9,21	5
Industrifisk 8-12 % fedt	30	32	25	32	10	32
Fjerkræaffald	15					
Affedtet fjerkræ		15	15	15	18	15
Ensilage Fishpro	6	6	6	6	6	6
Byg + Hvede	11,3	14,1	14,6	14,5	15,2	14,8
Blodmel	3					
Hæmoglobin		1,51	1,58	1,93	1,88	1
Kartoffel protein	2,82	2,84	2,40	1,65	3	2,39
Majsgluten	3	3	3	3	1,41	2,1
Sojaolie	2,33	2,53	3,06	5,78	7,52	6,22
Svinefedt	4,66	5,07	6,12	2,44	3,31	2,66
Isoleusin					0,09	
Phenylalanin					0,016	
DL-methionin			0,089	0,067	0,211	0,09
Eddikesyre	0,2	0,2	0,2			
Vitaminblanding	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Vand	13,7	12,7	18,0	12,0	23,5	12,1
Plantal						
Tørstof, %	42	42	42	42	42	42
Aske, %	1,9	1,8	1,7	1,7	1,6	1,7
Energi, kcal / 100 g	203	202	207	205	212	208
Energifordeling, P:F:K	32:53:15	30:52:18	27:55:18	28:54:18	24:58:18	26:56:18

\* Ændret fra blodmel til hæmoglobinmel 1/8; # justeret med fedt 25/8; □ justeret med fedt 14/10 og yderligere med kartoffelprotein 4/11; 0,16 g ford met / 100 kcal blev anvendt i hele perioden; Der blev anvendt DL-met og der regnes kun med 50 % udnyttelse; Mindstekrav til aminosyrer fulgte anbefalinger til fodercentraler 2015 (Lassén, 2014)

Hanhvalpene blev vejjet ved udsætning (8/7), den 12/8, 22/9 og ved pelsning. Skindene blev længdemålt og sorteret på Kopenhagen Farm. Kvalitet er vurderet på en skala fra 1 – 12 med 12 som bedst. Farve er vurderet på en skala fra 1 – 5 med 5 som de mest mørke skind og 1 som de mest røde.

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Procedurerne GLM (ss4), LSMEANS/PDIFF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau ved beregninger over vægt og længde. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Ved skindkvalitet, farve og renhed blev anvendt en non-parametrisk test (GENMOD). Silkethed, fyldighed og metallic blev analyseret med proceduren PROBIT eller  $X^2$ .

## Resultater og diskussion

Resultaterne af foderanalyserne ses af tabel 3. Som gennemsnit over perioden

passede de analyserede værdier pænt til de planlagte. Fordøjelighedsforsøg udført på de 3 foderblandinger fremstillet i oktober, viste 2,5 til 4,6 procent-enheder lavere proteinfordøjelighed i forhold til plantallene, og fra 0,8 til 2,9 procent-enheder højere fedtfordøjelighed (tabel 3) (Tinggård *et al.*, 2015). Den korrigerede beregnede OE<sub>p</sub> i oktober var, som følge af et lavere analyseret FK<sub>p</sub> og højere FK<sub>f</sub>, kun på 26 OE<sub>p</sub> i kontrolholdene (20,70 K2), kun på 22,7 OE<sub>p</sub> i 21 LP og 71 LP og kun på 24,9 OE<sub>p</sub> i 22 FC og 72 FC.

Analyser af foderets aminosyreindhold på samleprøver gennem de forskellige perioder (tabel 4) viste en tilfredsstillende overensstemmelse mellem analyserede og planlagte værdier for de fleste aminosyrer. Aminosyreindholdet overholdt normen, på nær først i perioden hvor methionin var lidt i underkanten og med phenylalanin i FC og LP holdene sidst i perioden, samt for arginin i FC og LP holdene.

Tabel 3. Plantal og analyseværdier (gennemsnit af alle analyser i perioden)

	15. juli – 9. aug.	10. aug. – 24. sep.	10. aug. – 24. sep.	25. sep. – pelsning	25. sep. – pelsning	25. sep. – pelsning
<b>Hold</b>	<b>alle</b>	<b>20, 70</b>	<b>21, 22, 71, 72</b>	<b>20, 70</b>	<b>21, 71</b>	<b>22, 72</b>
<b>Plantal</b>						
Tørstof, %	42	42	42	42	42	42
Aske, %	1,9	1,8	1,7	1,7	1,6	1,7
Energi kcal / 100 g	203	202	207	205	212	208
Energifordeling P:F:K	32:53:15	30:52:18	27:55:18	28:54:18	24:58:18	26:56:18
FK <sub>p</sub> §	82,8	83,7	83,5	83,8	82,3	83,2
FK <sub>f</sub> §	93,5	93,0	92,9	92,9	92,7	93,0
FK <sub>k</sub> §	68,3	70,4	70,7	70,1	70,5	70,1
<b>Analysetal</b>						
Tørstof, %	39	39	41	41,4	44	41
Energi kcal / 100 g	187	188	201	202	217	201
Energifordeling P:F:K	32:52:16	30:51:19	27:54:19	27:54:19	23:57:20	25:56:19
FK <sub>p</sub> §				79,2	78,9	80,7
FK <sub>f</sub> §				93,7	95,5	95,9
FK <sub>k</sub> §				67,1	72,5	71,9

§ fordøjeligheds kvotienter for hhv. protein, fedt og kulhydrat

**Tabel 4. Foderets analyserede og planlagte aminosyreindhold i g fordøjelige aminosyrer / 100 kcal (der er anvendt teoretiske FKp for aminosyrerne)**

	15. juli – 9. aug.		10. aug. – 24. sep.		10. aug. – 24. sep.		25. sep. – pelsning		25. sep. – pelsning		25. sep. – pelsning		
hold	alle		20, 70		21. 22, 71, 72		20, 70		21, 71		22, 72		
	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	norm
met	0,15	0,17	0,155	0,16	0,15	0,16 <sup>*1</sup>	0,18	0,16 <sup>*2</sup>	0,17	0,16 <sup>*3</sup>	0,17	0,16 <sup>*4</sup>	0,16
cys	0,097	0,084	0,11	0,077	0,059	0,07	0,1	0,071	0,058	0,062	0,067	0,067	0,06
lys	0,46	0,49	0,425	0,45	0,36	0,39	0,43	0,41	0,32	0,34	0,37	0,38	0,27
thr	0,26	0,29	0,245	0,26	0,21	0,23	0,22	0,23	0,19	0,2	0,22	0,22	0,17
trp	0,079	0,075	0,078	0,067	0,068	0,06	0,075	0,063	0,063	0,056	0,075	0,058	0,05
his	0,25	0,22	0,2	0,2	0,18	0,18	0,22	0,19	0,18	0,16	0,18	0,16	0,16
phe	0,35	0,38	0,34	0,35	0,31	0,32	0,32	0,32	0,28	0,29	0,28	0,29	0,29
tyr	0,22	0,28	0,21	0,26	0,21	0,23	0,2	0,23	0,18	0,2	0,2	0,22	0,18
leu	0,71	0,71	0,66	0,66	0,59	0,6	0,6	0,62	0,54	0,51	0,56	0,54	0,5
ile	0,29	0,31	0,3	0,3	0,26	0,26	0,27	0,26	0,27	0,26	0,26	0,26	0,26
val	0,46	0,45	0,41	0,43	0,36	0,39	0,38	0,4	0,34	0,35	0,34	0,36	0,35
arg	0,37	0,41	0,365	0,37	0,23	0,33	0,31	0,34	0,27	0,3	0,23	0,33	0,3

\* Analyseret met indhold er total methionin (D+L), plantal er L-methionin; Da der blev anvendt DL methionin og kun regnet med en 50 % udnyttelse, ville de forventede analyseværdier være 0,18-0,18-0,18-0,21 i hhv. <sup>\*1-2-3-4</sup>; Det ser ikke ud til at vi har kunnet genfinde alt den tilsatte methionin, det svarer til undersøgelser af Engbæk & Larsen (2014).

Der var ikke forskel i vægten i starten af perioden (dyrene blev fodret ens indtil 10/8). I september var der heller ikke forskel, men der var forskel på pelsningsvægten, således at hvalpe fodret med 24 OEp fra september var mindst ved pelsning (tabel 5). Grundet de

lave analyserede FKp var proteintildelingen i LP holdene 22 – 23 OEp. Tidligere undersøgelser har vist kortere skind og dårligere kvalitet ved 21 OEp (Olesen & Clausen, 1991). Der var dog ingen signifikant forskel i skindlængde og kvalitet (tabel 5 og 6).

**Tabel 5. Vægtudvikling gennem perioden samt skindlængde ved pelsning**

Hold	Udsætnings-vægt 8/7, g	Augustvægt 12/8, g	Septembervægt 22/9, g	Vægt ved pelsning, g *	Skindlængde, cm *
<b>Sorte</b>					
70 K2	1117 (140)	1932 (181)	2625 (264)	2952 (316) a	89,2 (4,1)
71 LP	1123 (142)	1939 (191)	2635 (337)	2745 (337) b	88,4 (4,6)
72 FC	1116 (146)	1901 (204)	2581 (327)	2891 (397) a	88,6 (5,2)
	NS	NS	NS	< 0,0001	NS
<b>Brune</b>					
20 K2	1186 (117)	2160 (192)	3027 (307)	3603 (356) a	95,8 (4,0)
21 LP	1169 (146)	2157 (235)	3038 (350)	3452 (406) b	94,9 (3,9)
22 FC	1168 (137)	2153 (201)	3019 (349)	3533 (443) ab	95,2 (4,3)
	NS	NS	NS	0,03	NS

NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er forskel; tallene i parentes er spredningen; \* der blev udtaget blod af nogle af de brune til pelsning, de er ikke med i opgørelsen af pelsningsdata

Skindparametrene var ikke forskellig mellem nogen af holdene (tabel 6). I vækstperioden 2012 og 2013 (Clausen & Larsen, 2014, 2015) blev nogenlunde de samme proteinniveauer afprøvet i brune og sorte. Resultaterne derfra viser lige-

ledes, at der kan produceres gode lange skind ved et reduceret proteinniveau i forhold til kontrolholdene.

I 2010 og 2011 (Clausen *et al.*, 2012; 2013) var der en del flere fyldige og færre

flade skind i kontrolholdet frem for lavproteinholdene, især var der mange flade skind i det hold hvor protein var sænket til 24 OE<sub>p</sub> allerede i august. Det reducerede indhold af nogle af aminosyrerne i forhold til anbefalinger til fodercentralerne (Lassén, 2014) kan evt. have haft en betydning. I den nuværende undersøgelse og i undersøgelsen i 2013 (Clausen & Larsen, 2015) hvor der blev anvendt 32 OE<sub>p</sub> helt frem til 10/8 og OE<sub>p</sub> i LP holdet først blev sænket til 24 fra september, blev der ikke set forskel i fylde. Det kan måske skyldes at minkene i den kritiske fase i juli, hvor anlæg til dækhår og underuld finder sted, har været velforsynede med protein, hvorimod det ikke var tilfældet i 2010 (Clausen *et al.* 2012).

Farven i de sorte skind i LP holdet var lysere end de øvrige hold (tabel 6). Tidligere undersøgelser har givet indikationer på, at det kan være gavnligt for den mørke farve hos sorte mink, hvis phe + tyr hæves til 0,55 g fordøjeligt phe + tyr / 100 kcal i perioden 10/8 – 1/10, derefter er 0,47 tilstrækkeligt (Clausen & Larsen, 2012). I LP holdet var phe + tyr i de to perioder (10/8–24/9 og 25/9 til pelsning) 0,52 hhv. 0,46. Det er lidt i underkanten af hvad der anbefales, men i FC holdet var det tilsvarende 0,52 hhv. 0,48, altså næsten det samme. Det ser derfor ikke logisk ud, hvis phe + tyr skulle være forklaringen. I kontrolholdet var de tilsvarende værdier 0,55 hhv. 0,52.

Tabel 6. Skindkvalitet

Tabel 6. Skinnkvalitet						
Hold	Kvalitet #	Silkede	Farve, §	Uld		
				Flade	Normale	Fyldige
Sorte						
70 K2	6,5 (2,4)	9,9	3,22 (0,91) a	9,9	81,0	9,1
71 LP	6,5 (2,4)	10,5	2,85 (0,96) b	5,6	83,9	10,5
72 FC	6,5 (2,5)	4,7	3,13 (0,96) a	8,7	83,4	7,9
	NS	NS	0,005	NS		
Brune						
20 K2	6,8 (2,4)	13,0		14,5	72,5	13,0
21 LP *	6,9 (2,2)	15,2		8,8	80,0	11,2
22 FC	6,3 (2,5)	17,4		14,4	72,7	12,9
	NS	NS		NS		

NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem holdene; tallene i parentes er spredningen; # kvalitet er vurderet på en skala fra 1 – 12 med 12 som bedst; § farve er vurderet på en skala fra 1 – 5 med 5 som de mest mørke skind og 1 som de mest røde; \* der blev udtaget blod af nogle af de brune til pelsning, de er ikke med i opgørelsen af pelsningsdata

Der blev set lungebetændelse/influenza (H1N1) fra 13/10 til 18/11, både i sorte og brune mink. Dødsfaldsfrekvensen var højere i de sorte end i de brune, mens der var nogenlunde samme andel med fedtlever i alle hold (tabel 7). I begge farvetyper var der højest dødelighed ved det laveste proteinniveau (planlagt 24 OE<sub>p</sub> fra september). Der var ikke forskel

mellem kontrolholdene og de hold der fik OE<sub>p</sub> som anbefalet til fodercentralerne. Set i lyset af den lavere fordøjelighed i det laveste proteinhold på 22-23 OE<sub>p</sub>, stemmer det overens med tidligere undersøgelser som viser stigning i frekvens af fedtlever ved 22 OE<sub>p</sub> (Clausen & Larsen, 2015).

Tabel 7. Frekvensen af døde mink i forsøgsholdene

Hold	Antal dyr ved udsættelse	Døde total, %	Forstørret fedtlever, %	Lungebetændelse, H1N1, %	Nyre / blære betændelse / sten, %
20 K2	274	1,5	0,7		
21 LP	276	2,2	0,7	0,7	
22 FC	274	1,1		0,4	0,4
70 K2	302	3,3	0,7	0,3	0,3
71 LP	310	4,8	1,0	0,3	0,6
72 FC	312	2,9	0,3	0,3	0,3

## Konklusion

Mink der blev fodret efter anbefalinger for proteinindhold i foderet givet til fodercentralerne i 2014 viste ikke signifikant forskel til kontrolholdene. LP-holdene gav lidt lavere pelsningsvægt og lidt lysere farve i de sorte. Det analyserede FKp var lavere end planlagt, hvorfor proteinniveauet reelt set har været på et noget lavere niveau.

## Referencer

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2015. Reduceret protein til minkhvalpe i vækst og pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2014, 51 – 64. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2014. Reduceret protein til minkhvalpe i vækst og pelssætningsperioden 2012. Faglig Årsberetning 2013, 29 - 40. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N., Lassén, T. M. & Larsen, P. F., 2013. Reduceret protein til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2011, 89-95. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Clausen, T. N. & Larsen, P.F., 2012. Fortsatte undersøgelser af betydningen af phenylalanin og tyrosin for vækst og pelsfarve hos sorte mink. Faglig Årsberetning for København Forskning 2011, 64 - 69. København Forskning, Agro Food Park 15, 8200 Aarhus N

Clausen, T. N., Lassén, T. M. & Larsen, P. F., 2012. Proteinreduktion i vækst- og pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2011, 112 - 115. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T. N., Sandbøl, P. & Hejlesen, C. 2008. Foder med forskellig energifordeling til minkhvalpe fra juli til medio september. Faglig Årsberetning 2007, 61-67, Pelsdyr erhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T. N., Sandbøl, P. & Hejlesen, C. 2006. Svovlholdige aminosyrer og methyl donorer til mink i pelssætningsperioden. Faglig Årsberetning 2005, 81-88. Pelsdyr erhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Damgaard, B. M., Larsen, P. F., Salomonsen, C. M., Rebekka Dam-Tuxen & Clausen, T. N., 2015. Effekten af højt og lavt proteinindhold i foderet på niveauet af antistoffer i blodet ved revaccination mod virusenteritis samt på blod, lever og sundhed hos mink. Faglig Årsberetning 2014, 143 – 147. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

Damgaard, B.M., Larsen, P.F., Thorup, V.M. & Clausen, T.N., 2014. Effekten af fodertilskud ved lav proteinforsyning på blod, lever og sundhed hos mink. Faglig Årsberetning 2013, xx-xx. København

Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Engbæk, M. & Larsen P.F. 2014. Genfindning og stabilitet af aminosyrer i minkfoder opbevaret ved forskellige temperaturer. Faglig Årsberetning 2013, 85-90, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Hejlesen C. & T. N. Clausen, 2001. Fasefodring af mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 2000, 77-80. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivningsvirksomhed, Holstebro, Danmark

Hejlesen, C., Clausen T.N., 2000. Fasefodring med protein til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 1999, 93-95. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Forskningsvirksomhed A/S, Danmark.

Hejlesen, C. & Clausen, T. N., 1999. Fasefodring til mink i vækstperioden. Faglig Årsberetning 1998, 73-81. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Forskningsvirksomhed A/S, Danmark

Hejlesen, C., Clausen, T. N. & Therkildsen, N., 1998. Fasefodring af

minkhvalpe i vækstperioden. Faglig Årsberetning 1997, 101-106. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivnings- virksomhed A/S, Danmark.

Jespersen, A., 2014, Submitted Veterinary Pathology

Lassén, T.M., 2014. Anbefaling - gældende – minkfoders sammensætning 2014. Intern Rapport, København Rådgivning 2013

Olesen, C.R. & Clausen, T.N., 1991. Minkens proteinbehov ved optimal krops- og pelsudvikling. Faglig Årsberetning 1990, 242 - 255. Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og Rådgivnings- virksomhed A/S, Danmark.

Rasmussen, P. V., Børsting, C. F., 1997 Undersøgelse af pelsudvikling og – kvalitet hos pastelmink fodret ved varierende proteinniveauer i løbet af vækstperioden. Faglig Årsberetning 1996 (2. udg.) 181-189 (111-116). Pelsdyrerhvervets Forsøgs- og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Tinggård, L., Engbæk, M. & Hvam, K., 2015. Fordøjelighedsforsøg, Interne Rapporter.

# Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau - Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N; Danmark

## Sammendrag

Der blev ved starten af vækstperioden 2011 oprettet to selektionshold. Et kontrolhold, som tildeles foder med et proteinindhold svarende til gennemsnitsniveauet på fodercentralerne i 2009, og et selektionshold, som tildeles foder med en 15 % reduktion i proteinindhold i forhold til niveauet i 2009.

Fjerde vækstperiode i selektionsgrupperne, viser lidt kortere skind i selektionsholdet, men en stadig stigning i skindkvaliteten i forhold til kontrolholdet. Udviklingen i kvaliteten gennem årene tyder således på, at vi ved selektion kan udvælge dyr med god kvalitet på et lavt proteinniveau. Der er lidt højere dødelighed i selektionsholdet, og der var en del hvalpe der ikke voksede normalt.

Fjerde dieperiode i selektionsgrupperne resulterede i stigende hvalpeantal i begge grupper i forhold til tidligere år. Der var tendens til den laveste kuldstørrelse ved fødsel i selektionsholdet frem for kontrolholdet, nok som følge af en bedre huldstyring af kontroltæverne i vinterperioden. Der var færre hvalpe i kullet dag 28 i selektionsgruppen, men større hvalpevægte.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau - Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015. Faglig Årsberetning 2015, 69-78. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

At the start of the growing season 2011 two selection groups was created. A control group assigned to feed with protein content similar to the average level at the feed kitchens in 2009, and a selection group assigned to feed with a 15% reduction in protein content compared to the level in 2009.

Fourth growth period show a little shorter skin in the selection group, but a steady increase in skin quality compared to the control group. The quality development over the years suggests that we can select animals with good quality at a low protein level but there were slightly higher mortality in the selection group and there were some kits with reduced growth.

Fourth lactation period showed an increasing number of kits in both groups compared to previous years. There was a tendency for the lowest litter size at birth in the selection group compared to the control group, probably due to better control of the body condition of control females during the winter period. There were fewer kits in the litter day 28 in the selection group but larger kit weights.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Selection of mink that perform well on a low protein feed - Status for growing-furring period 2014 and breeding period 2015. Annual Report 2015, 69-78, Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, Aarhus N DK-8200, Denmark.

**Keywords:** Selection, protein, breeding, growing-furring

## Introduktion

Det er vigtigt at minkfoder er sammensat ud fra en betragtning om optimal produktion, sundhed og velfærd. Samtidigt er det relevant at undersøge minkens tilpasningsevne over tid, ved at selekttere for de dyr, der klarer sig bedst under forskellige forudsætninger. Tidligere undersøgelser (Clausen *et al.*, 2008) viste en parallel stigning i pelsvægt og skindlængde i et selektionshold med lavt proteintildeling (27 OE<sub>p</sub> fra juli til pelsning) og et kontrolhold på

fodercentralfoder. Der var derimod utilfredsstillende resultater i kuldstørrelse og hvalpevægte dag 42 i selektionsholdet (40 OE<sub>p</sub> fra 21/2 til juli). Forsøget blev afsluttet i 2006.

Der blev ved opstart af vækstperioden 2011 oprettet to nye selektionshold, der skulle fortsætte i flere generationer. Et kontrolhold, som blev tildelt foder med et proteinindhold svarende til gennemsnitsniveauet på fodercentralerne i 2009, og et selektionshold, som blev tildelt foder med



en 15 % reduktion i proteinindhold i forhold til niveauet i 2009.

I første vækstperiode (2011) var der de længste skind, men den dårligste kvalitet i selektionsgruppen (Clausen & Larsen, 2013). Efter tre generationers selektion var der i vækstperioden 2013 lidt kortere skind i selektionsholdet, frem for kontrolholdet, men skindkvaliteten i de to grupper var ens (Clausen & Larsen, 2014; 2015). Udviklingen i skindkvaliteten gennem 3 års selektion viser klart, at vi ved selektion kan udvælge dyr med ligeså god skindkvalitet på et lavt proteinniveau. I 2013 var der dog en lidt højere dødelighed i selektionsholdet som følge af fedtlever (Clausen & Larsen, 2015).

I første dieperiode (2012) var der ikke forskel i kuldstørrelsen ved fødsel mellem de to proteinniveauer (Clausen & Larsen, 2013). Efter tre generationers selektion var der i dieperioden 2014 lavere hvalpeantal i begge grupper i forhold til tidligere år. Der var tendens til den laveste kuldstørrelse ved fødsel i kontrolholdet, det skyldtes dog højst sandsynligt at tæverne i kontrolholdet var lidt federe i slutningen af februar, og at flushingen dermed ikke blev optimal (Clausen & Larsen, 2014; 2015). Dieperioden forløb bedst for selektionsgruppen, der havde de største hvalpe dag 28, færrest "tynde" tæver og den største fodertildeling (Clausen & Larsen, 2015).

## Materiale og metoder

Til undersøgelsen, der forløb over flere år, indgik to grupper á 200 tæver med tilhørende hvalpe. Kontrolholdet blev året igennem fodret med et proteinniveau med udgangspunkt i det niveau der blev anvendt i 2009 på fodercentralerne. Selektionsholdet blev tildelt ca. 15 % mindre protein end kontrolholdet, fordelt

på de forskellige perioder af året. Hvert år blev avlsdyrene udvalgt ud fra farmens normale udvælgelseskriterier med hensyn til størrelse, kvalitet, avlsresultat og sundhed.

Forsøgsfodringen gennem året ses af tabel 1. I modsætning til tidligere år (Clausen & Larsen, 2013; 2014; 2015) blev der i perioden 20. april til 1. juli anvendt fodercentralfoder. Foderplanen for vækstperioden 2014 ses af tabel 2 og planen for dieperioden 2015 ses af tabel 3.

Forsøgsholdenes fodersammensætning blev kontrolleret jævnligt gennem perioden ved analyse af protein, fedt, tørstof og aske. Samleprøver af foderet for de relevante delperioder blev analyseret for aminosyreindhold. Der blev foretaget fordøjelighedsforsøg med 51 Kon fremstillet ved start af forsøget.

Hanhvalpene i vækstperioden 2014 blev vejjet ved udsætning (8/7) og ved pelsning/livdyrvurderingen november 2014. Tævehvalpene blev vejjet og kvalitetsvurderet ved livdyrvurderingen i november. Hanskindene blev længdemålt og sorteret på forsøgsfarmen. Alle døde dyr blev obduceret.

I vinter-dieperioden 2015 blev tæverne vejjet 6/1, 24/2 og dag 28 efter fødsel. Tæverne blev huldvurderet dagen efter fødsel. Hvalpene blev talt ved fødsel, talt, kønssorteret og vejjet dag 28 samt talt dag 42. Alle døde dyr blev obduceret for at fastslå årsag. I alle hold blev kuld med 6 hvalpe og flere delvist fravænnnet dag 42 for at undgå bid blandt hvalpene (Clausen & Larsen, 2015b).

Tabel 1. Energifordelingen til selektionsholdene i vækstperioden 2014 og dieperioden 2015

Hold	Antal hanhvalpe	1/7 - 10/8	10/8 – 25/9	25/9-pelsn.	Antal avlstæver	17/12/14 – 2/4/15	2/4 – 1/7
51 Kon	484	32:53:15	30:52:18	28:54:18	200	45:40:15	fodercentralfoder
52 Sel	494	28:57:15	24:58:18	24:58:18	200	30:55:15	fodercentralfoder

*Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau -  
Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015*

**Tabel 2. Foderplaner for vækstperioden, % iblanding af råvaren (gennem perioden blev planerne justeret når der kom råvarer med en ændret sammensætning)**

	15/7 – 9/8	15/7 – 9/8	10/8 – 24/9	10/8 – 24/9	25/9 – pelsning	25/9 – pelsning
<b>Hold</b>	<b>51 Kon</b>	<b>52 Sel</b>	<b>51 Kon</b>	<b>52 Sel</b>	<b>51 Kon</b>	<b>52 Sel</b>
Fiskeaffald 3-5 % fedt	8	5	5	5,5	5	9,2
Industrifisk 8-12 % fedt	30	25,9	32	15,0	32	10
Fjerkræaffald Løgstør	15	15				
Affedtet fjerkræ			15	18	15	18
Ensilage Fishpro	6	6	6	6	6	6
Byg + Hvede	11,3	11,8	14,1	15,3	14,5	15,2
Blodmel	3	3				
Hæmoglobin			1,51	1,79	1,93	1,88
Majsgluten	3	3	3	1,13	3	1,41
Kartoffel prot	2,82	2,05	2,84	3	1,65	3
Soyaolie	2,33	2,93	2,53	3,63	5,78	7,52
Svinefedt	4,66	5,87	5,07	7,27	2,44	3,31
DL methionin		0,077		0,2	0,067	0,211
Phenylalanin				0,018		0,016
Isoleucin				0,078		0,09
Eddikesyre	0,2	0,2	0,2	0,2		
Vit.-bl.	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Vand	13,7	19,1	12,7	22,9	12,0	23,5
<b>Plantal</b>						
Tørstof, %	42	42	42	42	42	42
Aske, %	1,9	1,7	1,8	1,5	1,7	1,6
Energiindhold, kcal / 100 g	203	211	202	212	205	212
Energifordeling	32:53:15	28:57:15	30:52:18	24:58:18	28:54:18	24:58:18
FK protein	82,8	82,6	83,7	82,4	83,8	82,3
FK fedt	93,5	93,4	93,0	92,8	92,9	92,7
FK kulhydrat	68,3	69,0	70,4	70,9	70,1	70,5

0,16 g fordiet / 100 kcal blev anvendt i hele perioden; Der blev anvendt DL-met og der regnes kun med 50 % udnyttelse; Mindstekrav til aminosyrer fulgte anbefalinger til fodercentraler 2015 (Lassén, 2014); Der blev skiftet fra blodmel til hæmoglobinnmel d. 1/8; D. 25/8 blev fedtet justeret ud fra analyseresultater; D. 4/11kartoffelprotein justeret ud fra analyseresultater

**Tabel 3. Foderplaner for vækstperioden 2015, % iblanding af råvaren**

	17/12	17/12	25/2	25/2
<b>Hold</b>	<b>51 Kon</b>	<b>52 Sel</b>	<b>51 Kon</b>	<b>52 Sel</b>
Fiskeaffald 3-5 % fedt	27	25	25	25
Industrifisk 5-8 % fedt	33,3	30	37,8	30
Affedtet fjerkræ	17	17	17	17
Ensilage Fishpro	3	3	3	3
Byg + Hvede	8,7	11,9	8,6	11,7
Hæmoglobinnmel	2	1,95	2	2
Kartoffel protein	2	0,9	2	1,1
Majsgluten	2	0,5	1,51	0,5
Soyaolie	1,79	5,55	1,93	5,8
Svinefedt	0,9	2,77	0,97	2,9
Vit.-bl. i kg	0,2	0,2	0,2	0,2
Vand	2,15	1,2	0	0,79
<b>Plantal</b>				
Tørstof, %	35	40	35	40
Aske, %	2,4	2,3	3,0	2,8
Energiindhold, kcal / 100 g	150	195	147	192
Energifordeling	45:40:15	30:55:15	45:40:15	30:55:15
FK protein	84,2	83,8	84,5	84,1
FK fedt	93,4	93,3	93,5	93,3
FK kulhydrat	65,6	68,1	64,3	67,2

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Procedurene GLM (ss4), LSMEANS / PDIF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau ved beregninger over vægt og længde. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Ved kuldstorelse, huld og skindkvalitet blev anvendt en non-parametrisk test (GENMOD). Goldprocent, silkethed og fyldighed blev analyseret med proceduren PROBIT eller  $X^2$ . MIXED blev anvendt ved sammenligninger mellem årene.

## Resultater og diskussion

### Vækstperioden

De analyserede andele af omsættelig energi fra protein som gennemsnit i perioderne ses af tabel 4. Analysetallene passede nogenlunde med plantallene. I starten var der dog en del variation i protein og fedt indholdet i 52 Sel, hvorfor der blev ændret til affedt fjerkræ. Ved fordøjelighedsforsøg med kontroldoder

(51 Kon) fremstillet ved begyndelsen af vækstperioden (d. 8/7), blev fundet 5,7 enheder lavere fordøjelighed af proteinet og 2,8 enhed højere fordøjelighed af fedtet. Det har således svaret til en energifordeling på 30:55:15 i stedet for som planlagt 32:53:15.

Analyser af foderets aminosyreindhold på samleprøver gennem de forskellige perioder (tabel 5) viste en tilfredsstillende overensstemmelse mellem analyserede og planlagte værdier for de fleste aminosyrer. Aminosyreindholdet overholdt normen, på nær lidt i underkanten med methionin først i perioden og med phenylalanin i 52 Sel sidst i perioden, samt arginin i selektionsholdet i hele perioden. Det ser ikke ud til at vi har kunnet genfinde alt den tilsatte methionin, det svarer til undersøgelser af Engbæk & Larsen (2014).

Tabel 4. Det analyserede energiindhold samt energifordeling, gennemsnit i perioderne

Analyse	15/7 – 9/8	15/7 – 9/8	10/8 – 24/9	10/8 – 24/9	25/9 – pelsn.	25/9 – pelsn.
	51 Kon	52 Sel	51 Kon	52 Sel	51 Kon	52 Sel
Tørstof, %	39	41	40	42	42	44
Energiindhold, kcal / 100 g	187	200	190	207	199	217
Energifordeling	32:52:16	30:54:16	30:50:20	24:57:19	28:53:19	23:57:20

Tabel 5. Foderets analyserede og planlagte aminosyreindhold i g fordøjelige aminosyrer / 100 kcal (der er anvendt teoretiske FKp for aminosyrerne)

	51 Kon		52 Sel		51 Kon		52 Sel		51 Kon		52 Sel		
	15-jul – 9/8		15-jul – 9/8		10-aug - 24/9		10-aug – 24/9		25-sep – pelsn.		25-sep – pelsn.		
	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	analyse	plantal	norm
Met	<b>0,15</b>	0,17	0,16	0,16 * <sup>1</sup>	<b>0,155</b>	0,16	0,18	0,16 * <sup>2</sup>	0,18	0,16* <sup>3</sup>	0,17	0,16 * <sup>4</sup>	0,16
cys	0,097	0,084	<b>0,059</b>	0,076	0,11	0,077	0,066	0,062	0,1	0,071	<b>0,058</b>	0,062	0,06
lys	0,46	0,49	0,4	0,42	0,425	0,45	0,34	0,35	0,43	0,41	0,32	0,34	0,27
thr	0,26	0,29	0,24	0,25	0,245	0,26	0,2	0,2	0,22	0,23	0,19	0,2	0,17
trp	0,079	0,075	0,072	0,066	0,078	0,067	0,066	0,057	0,075	0,063	0,063	0,056	0,05
his	0,25	0,22	0,2	0,19	0,2	0,2	0,16	0,16	0,22	0,19	0,18	0,16	0,16
phe	0,35	0,38	0,34	0,33	0,34	0,35	<b>0,28</b>	0,29	0,32	0,32	<b>0,28</b>	0,29	0,29
tyr	0,22	0,28	0,22	0,24	0,21	0,26	0,18	0,2	0,2	0,23	0,18	0,2	0,18
leu	0,71	0,71	0,67	0,63	0,66	0,66	0,51	0,5	0,6	0,62	0,54	0,51	0,5
ile	0,29	0,31	0,28	0,26	0,3	0,3	0,26	0,26	0,27	0,26	0,27	0,26	0,26
val	0,46	0,45	0,41	0,4	0,41	0,43	0,35	0,36	0,38	0,4	<b>0,34</b>	0,35	0,35
arg	0,37	0,41	<b>0,28</b>	0,35	0,365	0,37	<b>0,18</b>	0,3	0,31	0,34	<b>0,27</b>	0,3	0,3

\* Analyseret met indhold er total methionin (D+L), plantal er L-methionin; Da der blev anvendt DL methionin og kun regnet med en 50 % udnyttelse, ville de forventede analyseværdier være 0,18-0,21-0,18-0,21 i hhv. \*<sup>1-2-3-4</sup>

Ved opstart af vækstperioden (8/7) vejede hvalpene i de to hold det samme (tabel 6), ved vejning ved pelsning var der signifikant lavere vægt i selektionsholdet end i kontrolholdet, det resulterede i kortere skind ved pelsning.

**Tabel 6. Vægtudviklingen gennem vækstperioden (gram) samt skindlængde (cm)**

Hold	Udsætnings- vægt 8/7	Pelsnings- vægt	Skind- længde
<b>51 Kon</b>	1148 (181)	3522 (444) a	95,0 (4,5) a
<b>52 Sel</b>	1142 (185)	3362 (442) b	93,8 (4,5) b
	NS	< 0,0001	< 0,0001

Tallene i parentes angiver spredningen; NS angiver at der ikke er forskel mellem holdene. Forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er signifikant forskel

Udviklingen i skindlængden gennem forsøgsårene (figur 1) viste de længste skind i selektionsgruppen det første år, derefter faldt skindlængden for begge grupper (der var et generelt fald i skindlængden for alle hanner på farmen i 2012). I 2013 var skindlængden på niveau med 2012, dernæst kom, for begge grupper, en stigning i 2014. I perioden 2012 til 2014 har kontrolholdets mink været længst.

I 2011 og 2012 var der signifikant dårligere skindkvalitet samt signifikant flere flade skind i selektionsholdet frem for kontrolholdet (Clausen & Larsen, 2013; 2014). I 2013 var der ikke forskel mellem de to grupper hverken med hensyn til kvalitet eller uld (Clausen & Larsen, 2015). I 2014 var der flere fyldige skind i selektionsgruppen (tabel 7). Den overordnede skindkvalitet var ikke forskellig Niveauet var lidt højere i selektionsgruppen, som følge af noget kortere skind i denne gruppe.

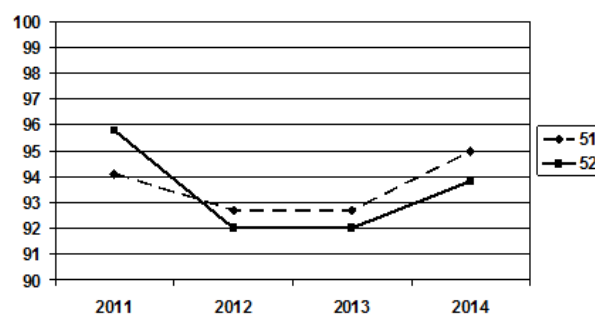
**Tabel 7. Kvalitet, silkede, flade og fyldige skind**

Hold	Kvalitet *	Silkede	Uld, %		
			Flade	Normale	Fyldige
<b>51 Kon</b>	6,0 (2,5)	12,3	14,6	77,2	8,2
<b>52 Sel</b>	6,3 (2,5)	15,9	8,6	77,0	14,4
	NS (0,10)	NS	0,0003		

Tallene i parentes angiver spredningen; NS angiver at der ikke er forskel mellem holdene, \* kvalitet 1 – 12, 12 er bedst

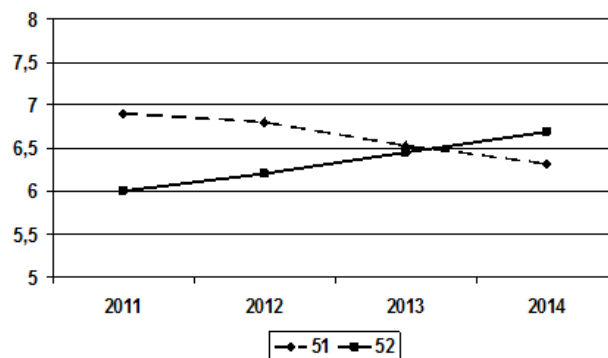
Udviklingen i kvaliteten siden forsøgets start i 2011 (figur 2) viser tydeligt, at det ved selektion er muligt at udvælge mink med ligeså god kvalitet på et lavt proteinniveau, som et højt proteinniveau. Skindene i de to grupper er samsorteret og vurderet i forhold til hinanden, et fald i kontrolholdets karakter er således kun et udtryk for at selektionsholdet er blevet bedre idet gennemsnit altid vil resultere i en karakter på 6,5 ved samsortering.

**Længde i selektionshold**



**Figur 1. Udviklingen i skindlængden (cm) gennem forsøgsårene**

**Kvalitet i selektionshold**



**Figur 2. Udviklingen i kvalitet gennem årene; karakter 1-12, 12 er bedst**

Der var en relativ høj dødelighed i de to grupper (tabel 8) og flest i selektionsholdet, som følge af mange "rørmink". "Rørmink" defineres som hvalpe der mistrives i ekstrem grad, nogle døde gennem perioden, andre overlevede til pelsning, men er taget ud af opgørelsen for vægte og skindegenskaber. Hvalpe med en tilvækst fra udsætning i juli til

pelsning på mindre end 750 g blev benævnt "rørmink". Grunden til at der kom mange "rørmink" i 52 Sel er ikke klarlagt. I vækstperioden 2013 var der ligeledes den højeste dødelighed i 52 Sel, dét år på grund af mange hvalpe med fedtlever i 52 Sel (Clausen & Larsen, 2015).

Tabel 8. Frekvensen af døde (hanner og tæver)

Hold	Procent døde i alt	Deraf procent døde med				"rørmink" der levede til pelsning	Total "rørmink"
		Urinvejs-problemer	Lungebetændelse #	fedtlever	"rørmink"		
51 Kon	5,1	2,1	0,4	0,2	0,5	0,2	0,7
52 Sel	6,2	1,4	0,7	0,3	1,7	1,8	3,6

# H1N1

### Dieperioden

Foderanalyserne viste en tilfredsstillende overensstemmelse mellem planlagte og analyserede værdier (tabel 9).

Tabel 9. Det analyserede energiindhold samt energifordeling, gennemsnit i perioderne

	51 Kon	52 Sel
Tørstof, %	31	36
Energiindhold, kcal / 100 g	132	173
Energifordeling	46:39:15	30:55:15

Tæver og hanner udtaget til avl i 2014 ses af tabel 10. Hannerne i de to grupper og tæverne i de to grupper vejede det samme, men for både hanner og tæver blev der udvalgt dyr til avl af en lidt bedre

kvalitet i selektionsgruppen end i kontrolgruppen.

Tævernes vægtudvikling gennem vinterperioden blev fulgt ved et vejehold (figur 3), efter flushing var tilvæksten i vejeholdets kontroltæver lidt under selektionsholdets tæver.

Ved sortering (tabel 10) og ved vejning i januar og februar (tabel 11) var der ikke forskel i tævernes vægt, men der var det signifikant største vægttab fra januar til februar i 51 Kon. Dag 28 var der derimod en tendens til at tæverne i 51 Kon vejede mest. Der var ikke forskel i huld lige efter fødsel.

Tabel 10. Vægt og kvalitet ved sortering hos hanner og tæver udtaget til avl

	Hanner		Tæver	
	Sorterings vægt, g	Kvalitet *	Sorterings vægt, g	Kvalitet *
Kon (51)	3627 (215)	3,66 (0,68)	1928 (167)	3,28 (0,86)
Sel (52)	3639 (209)	4,05 (0,78)	1920 (180)	3,43 (0,91)
	NS	0,01	NS	NS (0,08)

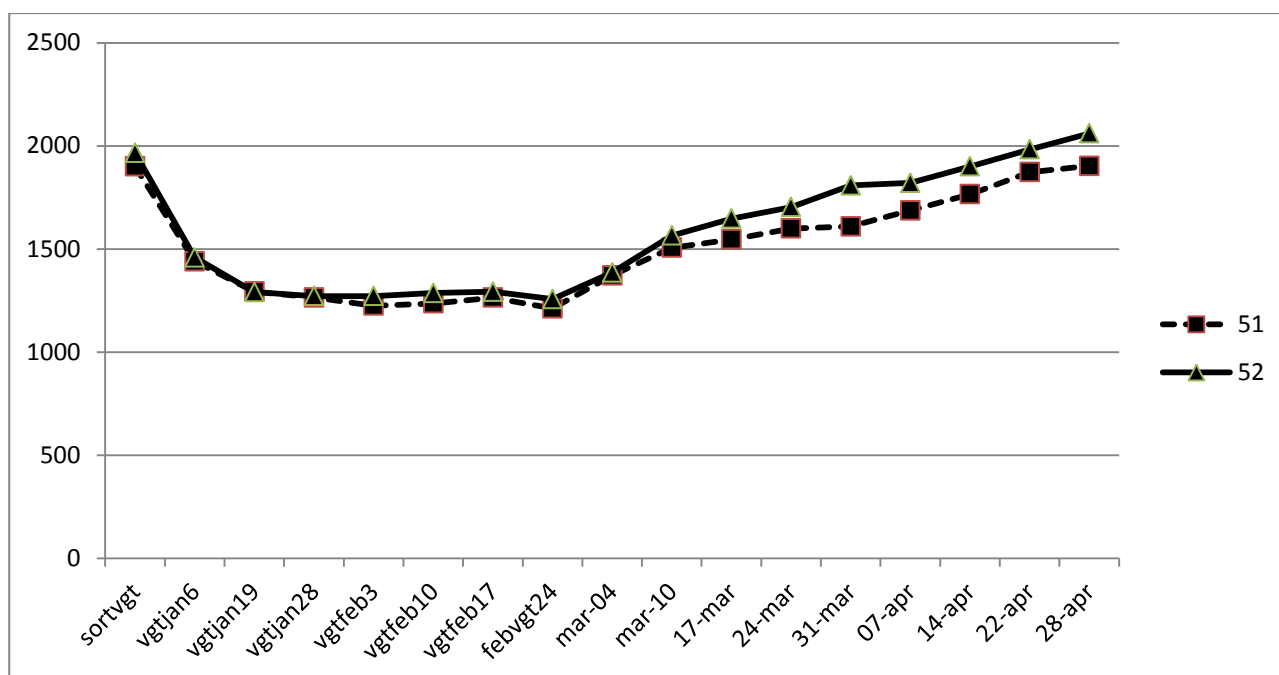
\* Kvalitet 1 til 5, med 5 som bedst; Tallene i parentes angiver spredningen; NS angiver at der ikke er forskel mellem holdene

Tabel 11. Tævernes vægtudvikling og huldscore

	Antal tæver	Vægt, g 6. januar	Vægt, g 24. februar	Vægttab, g fra jan – feb	Vægt, g dag 28 *	Huld v. fødsel
Kon (51)	218	1465 (187)	1170 (167)	298 (194) a	1572 (182)	3,0 (0,3)
Sel (52)	213	1434 (205)	1192 (166)	246 (217) b	1542 (176)	3,0 (0,3)
		NS	NS	0,009	NS (0,08)	NS

Tallene i parentes angiver spredningen; NS angiver at der ikke er forskel mellem holdene, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er forskel; \* Der blev vejlet 120 – 140 kuld dag 28 i hver gruppe

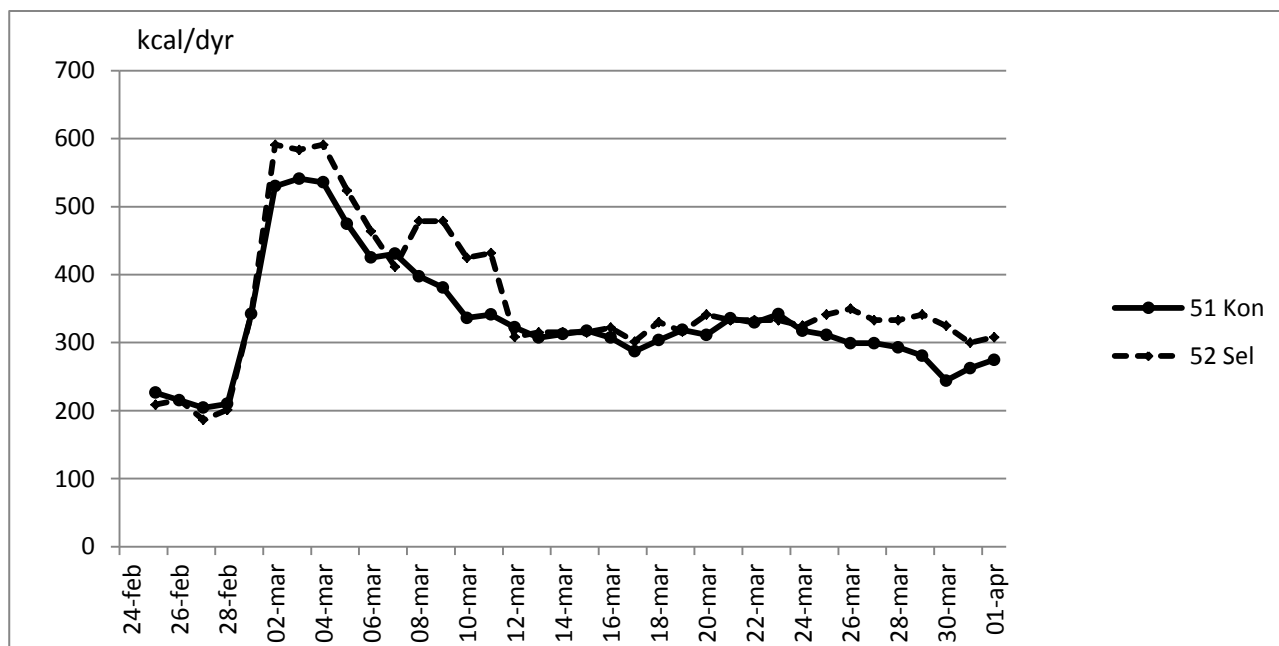
Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau -  
Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015



Figur 3. Vægtudviklingen i vejeholdet (15 tæver i hvert hold)

Fodertildelingen i marts måned viste lidt forskel mellem de to grupper, 52 Sel fik lidt flere kalorier ved selve flushingen og

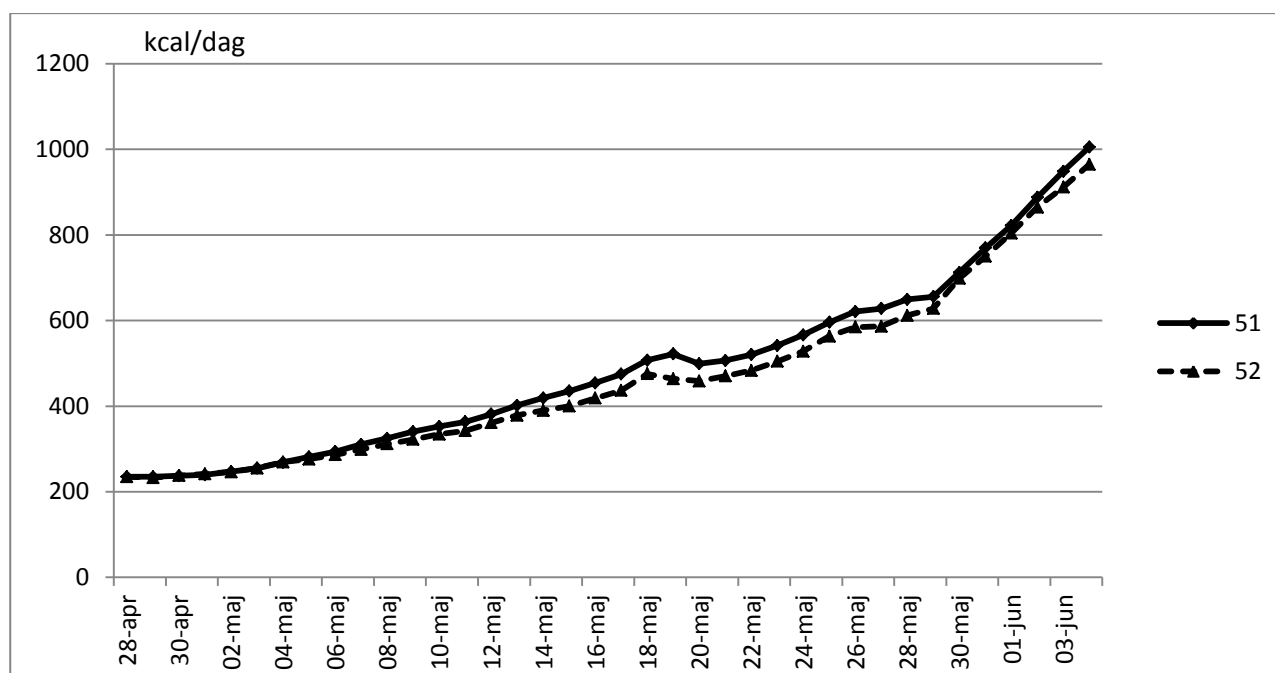
havde en mere ujævn fodring gennem marts end 51 Kon (figur 4).



Figur 4. Kalorietildelingen i parringsperioden

Fodringen fra d. 20. april var med fodercentralfoder og foderrytmen i de to hold fulgte hinanden (figur 5). Fra midten

af maj var kalorietildelingen til 52 Sel lidt under 51 Kon.



Figur 5. Kalorietildelingen i dieperioden

Goldprocenten var ikke forskellig mellem holdene (tabel 12). Der var tendens til flere hvalpe i kontrolgruppen ved fødsel ( $p=0,08$ ) (tabel 12), dag 28 var forskellen signifikant. Det er formodentlig forårsaget af en bedre flushing af tæverne i det hold. Tæverne i 51 Kon havde et større

vægttab fra januar til februar (tabel 11). Det lidt større antal hvalpe resulterede i et lidt større foderforbrug i 51 Kon i dieperioden (figur 5). Der var ingen forskel i hvalpetabet fra fødsel til dag 28 og der var ikke problemer med diarré eller utrivlighed.

Tabel 12. Hvalpeantal og gold procent

	Antal kuld	Levende v. fødsel	Døde v. fødsel	Gold %	Hvalpe dag 28	Hvalpetab fødsel – dag 28
Kon (51)	201	8,44 (2,39)	0,44 (0,86)	4,3	7,61 (2,68) a	0,84 (1,31)
Sel (52)	189	7,85 (2,95)	0,65 (1,35)	7,8	6,86 (3,02) b	0,99 (1,65)
		NS (0,08)	NS	NS	0,02	NS

Tallene i parentes angiver spredningen; NS angiver at der ikke er forskel mellem holdene, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er forskel mellem holdene

Udviklingen i kuld størrelsen ved fødsel i grupperne gennem de år selektionsforsøget har kørt, har varieret (figur 6). I 2013 og 2014 var der lidt flere hvalpe i selektionsgruppen, men i 2015 var der flest i kontrolgruppen.

Når data fra dieperioderne samles viser de statistiske beregninger, at der ikke er nogen effekt af fodrets proteinindhold på hvalperesultatet ved fødsel. Derimod er februar vægten en vigtig og signifikant faktor, jo tungere tæver i februar jo færre levendefødte hvalpe ved fødsel (figur 6).

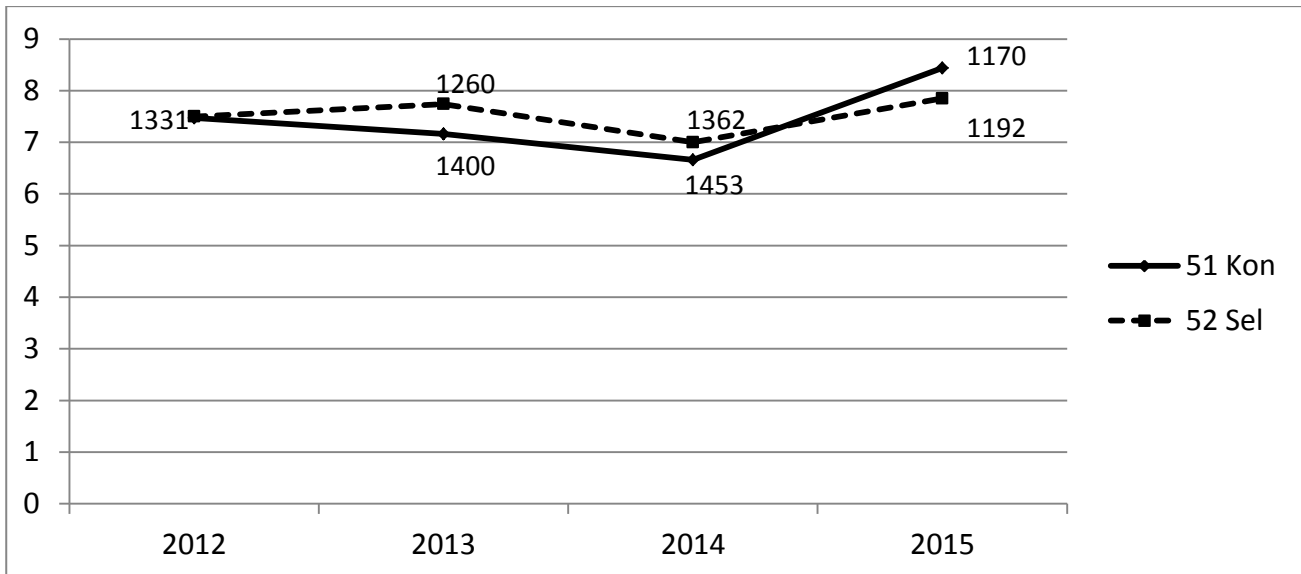
Hvalpenes vægt dag 28 var forskellig mellem holdene (tabel 13). Der var de største vægte dag 28 i 52 Sel, formodentligt på grund af færre hvalpe i den gruppe (tabel 12).

Tabel 13. Hvalpevægte dag 28

	Hanhvalpe	Tævehvalpe
Kon (51)	205 (32) b	186 (28) b
Sel (52)	215 (28) a	194 (23) a
	0,03	0,03

Tallene i parentes angiver spredningen, forskellige bogstaver i en kolonne angiver at der er forskel mellem holdene

*Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau -  
Status vækstperioden 2014 og dieperioden 2015*



Figur 6. Udviklingen i kuldstørrelsen ved fødsel gennem forsøgsårene og tæve vægt 21. februar

Dødelighed blandt tæverne i vinter og dieperioden var nogenlunde ens i de to hold (tabel 14). Der var 3 tæver med forstørret fedtlever i 52 Sel, ingen i 51 Kon.

Tabel 14. Dødeligheden af tæver gennem perioden

	Pct døde
Kon (51)	4,6
Sel (52)	5,6

### Konklusion

Fjerde vækstperiode i selektionsgrupperne, viser lidt kortere skind i selektionsholdet, men en stadig stigning i skindkvaliteten i forhold til kontrolholdet. Udviklingen i kvaliteten gennem årene tyder således på, at vi ved selektion kan udvælge dyr med god kvalitet på et lavt proteinniveau, men der er lidt højere dødelighed i selektionsholdet, og der var en del hvalpe der ikke voksede normalt.

Fjerde dieperiode i selektionsgrupperne, resulterede i stigende hvalpeantal i begge grupper i forhold til tidligere år. Der var tendens til den laveste kuldstørrelse ved fødsel i selektionsholdet frem for kontrolholdet, nok som følge af en bedre huldstyring af kontroltæverne i vinterperioden. Der var færre hvalpe i kuldet dag 28 i selektionsgruppen men større hvalpevægte.

### Referencer

Clausen, T.N., Sandbøl, P. & Hejlesen, C. 2008. Selektion for mink tilpasset et lavt protein indhold i foderet. Status for vækstperioden 2006 og samlet opgørelse. Faglig Årsberetning 2007, 49-54, Pelsdyrervhervets Forsøgs og ForskningsCenter, Holstebro, Danmark.

Clausen, T. N. & Larsen, P.F., 2013. Selektion for minkhvalpe der klarer sig godt på et lavt proteinfoder. Vækstperioden 2011 og dieperioden 2012. Faglig Årsberetning 2012, 101-109. København Forskning, Agro Food Park 15, DK- 8200 Aarhus N, Danmark

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2014. Selektion af hvalpe der klarer sig godt på et lavt proteinniveau. Status vækstperioden 2012 og dieperioden 2013. Faglig Årsberetning 2013, xx-xx. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2015. Selektion for mink der klarer sig godt på et lavt proteinniveau - Status vækstperioden 2013 og dieperioden 2014. Faglig Årsberetning 2014, 65 - 73. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.



Clausen, T.N & Larsen, P.F., 2015b. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). Open Journal of Animal Sciences, 5, 71-76.

Engbæk, M. & & Larsen P.F. 2014. Genfinding og stabilitet af aminosyrer i minkfoder opbevaret ved forskellige

temperaturer. Faglig Årsberetning 2013, 85-90, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Lassén, T.M., 2014. Anbefaling - gældende – minkfoders sammensætning 2014. Intern Rapport, København

## Minks behov for vitamin E fra fravænning til pelsning

Ditte Clausen<sup>1</sup>, Søren K. Jensen<sup>1</sup>, Tor Mikael Lassén<sup>2</sup>, Tove N. Clausen<sup>2</sup> & Peter F. Larsen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aarhus Universitet, Institut for Husdyrvidenskab, 8830 Tjele, Danmark

<sup>2</sup>Kopenhagen Fur, 2600 Glostrup, Danmark

### Sammendrag

Afbalanceret tildeling af vitaminer er en forudsætning for høj tilvækst og velfærd hos mink. Naturligt E vitamin er dyrere end syntetisk E vitamin, men tidligere studier indikerer at mink udnytter og deponerer naturligt E vitamin bedre. I vækstperioden 2014 blev der udført et forsøg med 1080 Brune hanner og tæver (*Neovison vison*) fra fravænning til pelsning for at undersøge udnyttelsen af og behovet for naturligt og syntetisk E vitamin på pelskvalitet, tilvækst og sundhed. Forsøget fandt ingen betydelige forskelle på pelskvalitet og tilvækst hos mink ved en tildeling af 40 eller 80 mg syntetisk E vitamin pr. kg foder eller 20 eller 40 mg naturligt E vitamin pr. kg foder. Dog indikerede resultaterne at mink udnytter og deponerer naturligt E vitamin bedre en syntetisk E vitamin. Antallet af selvdøde mink og fedtlever var ikke afhængig af form eller dosis.

**Clausen, D., Jensen, S.K., Lassén, T.M., Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Minks behov for vitamin E fra fravænning til pelsning. Faglig Årsberetning 2015, 79-84, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

### Abstract

A well-balanced supplementation of vitamins is a prerequisite for satisfying weight gain and welfare of mink. Natural vitamin E is more expensive than synthetic vitamin E, however studies indicates that mink utilizes the natural form better than the synthetic form. A experiment with 1080 Brown male and female mink (*Neovison vison*) was performed in the growth period 2014 to study the utilization and requirement of natural and synthetic vitamin E on pelt quality, weight gain and health. No differences in pelt quality and weight gain was found in mink fed 40 or 80 mg synthetic vitamin E per kg diet, or 20 or 40 mg natural vitamin E per kg diet. However, there were indications of a better utilization and depositing of natural vitamin E. The prevalence of dead animals and hepatic lipidosis were not affected by form or dose.

**Clausen, D., Jensen, S.K., Lassén, T.M., Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Mink's requirement for vitamin E from weaning to pelting. Annual Report 2015, 79-84, København Fur Research, Agro Food Park 15, DK-Aarhus N, Denmark

**Keyword:** Synthetic vitamin E, natural vitamin E, growth, fur quality, *Neovison vison*

### Baggrund

$\alpha$ -Tocopherols ( $\alpha$ T) betydning for dyr og menneskers sundhed har været kendt i mange år. Selvom der har været forsket i  $\alpha$ T siden vitaminet blev opdaget af Evans & Bishop (1922), er der stadig mange ubesvarede spørgsmål om udnyttelse, funktion af og behov for  $\alpha$ T, samt mange ubesvarede spørgsmål omkring den biologiske og økonomiske værdi af om vitaminet er på naturligt eller syntetisk form. Normalt anvendes den syntetiske form af  $\alpha$ T, *all-rac*- $\alpha$ -tocopheryl acetat ( $\alpha$ Tac), som tilsætning til minkfoder, men en stigende interesse for den naturlige form af  $\alpha$ T, RRR- $\alpha$ -tocopheryl acetat (RRRac) har øget behovet for at undersøge effekten af denne form hos mink.

De eksisterende anbefalinger på mellem 60 og 80 mg  $\alpha$ Tac pr. kg foder er baseret på et otte uger langt forsøg med fire måneder gamle mink, der blev tildelt forskellige mængder  $\alpha$ Tac til foder med et højt peroxidtal (Engberg *et al.*, 1993). Behovet i vækst og pelsætningsperioden er aldrig undersøgt og der er aldrig taget hensyn til valget af  $\alpha$ T form i fastlæggelsen af  $\alpha$ T behovet.

Mink udnytter den naturlige RRR-stereoisomer af  $\alpha$ T bedre end de syntetiske stereoisomerer og  $\alpha$ T findes i langt mere stabile produkter i dag end tidligere. I tilgift er der sket en ændring i foderingredienserne og blandeteknologi- en samt en voldsom forbedring af foder-

hygiejne og – kvalitet gennem de sidste 20 år. Det betyder at både den mikrobielle, tekniske og oxidative stabilitet af foderet er langt bedre i dag end tidligere. Derfor giver det god mening at revurdere minks behov for  $\alpha$ T i vækst og pelssætningsperioden. Som følge af den høje biologiske aktivitet af RRR- $\alpha$ T (Burton & Ingold, 1981), er forsøget her gennemført som et dosis respons forsøg med RRRac og  $\alpha$ Tac fra fravænning til pelsning. Plasma status af  $\alpha$ T, indlejring af de otte stereoisomerer af  $\alpha$ T i plasma, organer og fedtvæv samt sundheds- og produktionsdata indgik i vurderingen af behandlingerne. Hypotesen bag forsøget er, at mink udnytter RRRac bedre end  $\alpha$ Tac.

### Materialer og Metoder

Forsøget blev gennemført fra fravænning til pelsning med forskellig tildeling af RRRac eller  $\alpha$ Tac pr. kg foder. I vækst- og pelssætningsperioden 2014 (juli til pelsning i november) blev 1080 brune minkhvalpe opstaldet parvis, en han og en hun pr. bur, fordelt på de fire behandlingsgrupper med 135 par pr. behandling. Indtil forsøgsstart den 15. juli blev dyrene fodret med den almindelige foderblanding på Forsøgsfarmen. Fra forsøgsstart den 15. juli blev minkene fodret med en grundblanding tilsat forskellige mængder og former af  $\alpha$ T (Tabel 1). Vitaminprodukterne blev stillet til rådighed af Agrokorn A/S (Videbæk, Danmark).

**Tabel 1. Forsøgsdesign og behandlinger**

Gruppe	Behandling	Antal dyr
80 $\alpha$ Tac <sup>1</sup>	<sup>2</sup> 80 mg <i>all-rac</i> - $\alpha$ -tocopheryl acetat	270 <sup>3</sup>
40 $\alpha$ Tac	<sup>2</sup> 40 mg <i>all-rac</i> - $\alpha$ -tocopheryl acetat	270 <sup>3</sup>
40 RRRac	<sup>2</sup> 40 mg RRR- $\alpha$ -tocopheryl acetat	270 <sup>3</sup>
20 RRRac	<sup>2</sup> 20 mg RRR- $\alpha$ -tocopheryl acetat	270 <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kontrolgruppe; <sup>2</sup>  $\alpha$ T mg pr. kg foder; <sup>3</sup> 135 hanner og 135 tæver

Tyve tilfældigt udvalgte hanner fra hver behandlingsgruppe blev vejet fem gange i løbet af forsøget; juli, august, september,

oktober og november. I september, oktober og november blev også tæven i buret vejet. Minkene blev fodret en gang om dagen og havde ad libitum adgang til frisk vand.

De dagligt udvejede foder-mængder til hver behandlingsgruppe blev registreret og foderprøver indsamlet fra hver behandlingsgruppe fire til fem gange i løbet af forsøget. Foderprøverne blev opbevaret ved -20 °C indtil de blev analyseret. Der blev taget blodprøver fra *vena cephalica* den 18. juli fra to tilfældigt udvalgte par pr. behandlingsgruppe. Derefter blev der taget blodprøver fra fire par pr. behandlingsgruppe, altså fra 32 dyr i alt, den 14. august, 22. september og 15. oktober. Ved pelsning den 13. november blev 32 mink aflivet med CO<sub>2</sub>. Dyrene blev vejet og blodprøver udtaget ved hjertepunktur. Alle blodprøver bestod af ca. to ml blod udtaget i lithium heparin coatede glas og plasma blev nedfrosset ved -20 °C indtil de blev analyseret. Efter den sidste blodprøve blev minkene pelset og lever, hjerte, hjerne, lunger og bugfedt blev udtaget og vejet. Organer og væv blev opbevaret ved -20 °C indtil de blev analyseret.

Foder, plasma, organer og bugfedt blev analyseret på AU-Foulum, Institut for Husdyrvidenskab for indhold af  $\alpha$ T og stereoisomerer af  $\alpha$ T som beskrevet af Jensen & Lauridsen (2007). Fedtsyre-sammensætningen blev analyseret i henhold til metoden beskrevet af Jensen (2008). Kemisk sammensætning af foderet blev analyseret af Dansk Pelsdyrfoder a.m.b.a., Analyse Laboratoriet i henhold til Kommissionens regulativ nr. 152/2009.

### Resultater og diskussion

Det analyserede indhold af  $\alpha$ T i de fire foderblandinger varierede over tid. Koncentrationen af  $\alpha$ T i 20 RRRac blandingen var 20 mg pr kg i juli, men faldt til 13 mg pr. kg i august for derefter

at stige igen i september, oktober og november til et stabilt niveau omkring 16 mg pr. kg. I 40  $\alpha$ Tac blandingen var indholdet 39 mg pr kg i juli, steg  $\alpha$ T koncentrationen i august til 48,9 mg pr. kg, mens indholdet var stabilt omkring 32 mg pr. kg i september og november. I 40 RRRac blandingen var  $\alpha$ T indholdet 40 mg pr kg i juli, men faldt til omkring 28 mg pr. kg resten af perioden. Koncentrationen af  $\alpha$ T i 80  $\alpha$ Tac blandingen faldt gennem hele forsøget fra 86 mg pr. kg i juli til 62 mg pr. kg i oktober.

Det analyserede indhold af  $\alpha$ T varierede mere end forventet. Alle foderblandinger havde det forventede indhold ved forsøgets begyndelse, men indholdet faldt over tid. Dette fald lader sig ikke

umiddelbart forklare da foderet blev fremstillet på en gang og indfrosset i dagsportioner. Endelig blev de udtagne prøver analyseret på samme tid og opbevaret ved -20 °C indtil analyse.

Vægten ved pelsning var 3684 g for hanner og 1924 g for tæver og der var ingen signifikante forskelle i tilvækst gennem forsøget hverken hos hanner eller tæver. Startkoncentrationen af  $\alpha$ T i plasma var  $12.5 \pm 9.9$   $\mu$ g pr. ml og der var ingen signifikante forskelle mellem behandlingsgrupperne (Tabel 2).

Minkenes tilvækst og slutvægt var ikke påvirket af foderets vitamin E indhold eller kilde i god overensstemmelse tidligere undersøgelser (Työppönen *et al.*, 1984; Engberg *et al.*, 1993).

**Tabel 2. Effekt af behandlingerne på  $\alpha$ T koncentration i plasma ( $\mu$ g pr. ml). Resultater er LSmeans og standard afvigelse på rådata.**

	80 $\alpha$ Tac		40 $\alpha$ Tac		40 RRRac		20 RRRac		P-værdi
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Juli	11.0	9.7	12.2	12.3	18.8	7.8	7.5	8.9	0.5
August	40.8 <sup>a*</sup>	7.8	25.0 <sup>bc</sup>	7.5	30.4 <sup>ab</sup>	12.3	18.9 <sup>c</sup>	10.7	<.0001
September	36.9 <sup>a</sup>	9.5	24.8 <sup>bc</sup>	5.4	29.7 <sup>ab</sup>	10.5	21.1 <sup>c</sup>	7.3	<.0001
Oktober	31.9 <sup>a</sup>	5.5	19.1 <sup>b</sup>	5.6	23.0 <sup>b</sup>	6.7	17.3 <sup>b</sup>	5.2	<.0001
November	22.6 <sup>a</sup>	4.3	13.3 <sup>b</sup>	3.6	18.9 <sup>ab</sup>	8.7	11.4 <sup>b</sup>	4.0	<.0001

Forskellige bogstaver indikerer signifikant forskel mellem rækker ( $p < 0.05$ )

Koncentrationen af  $\alpha$ T i plasma faldt over tid og det største fald i plasma  $\alpha$ T skete i 80  $\alpha$ Tac gruppen. Plasmakoncentrationen af  $\alpha$ T totalt set var signifikant højere i mink i 80  $\alpha$ Tac gruppen end i 40  $\alpha$ Tac og 20 RRRac gruppen gennem hele forsøget. Der var dog ingen signifikant forskel mellem 80  $\alpha$ Tac og 40 RRRac grupperne undtagen i oktober ( $p < 0.05$ ). Koncentrationen af  $\alpha$ T i plasma i 40 RRRac gruppen tenderede til at være højere end i 40  $\alpha$ Tac gruppen, men forholdet mellem  $\alpha$ T i plasma fra RRRac og  $\alpha$ Tac steg gennem forsøget fra 1,2:1 til 1,7:1. Generelt var der forskel i totalkoncentrationen af  $\alpha$ T mellem  $\alpha$ T

formerne og dosis i organer og fedtvæv (Tabel 3). Fælles for de to former var dog at koncentrationen af  $\alpha$ T i plasma, organer og fedtvæv steg med stigende tildeling af  $\alpha$ T i foderet. Den højeste totalkoncentration af  $\alpha$ T blev fundet i lever og bugfedt. Mink fra 80  $\alpha$ Tac gruppen havde signifikant højere koncentration af  $\alpha$ T i lever, hjerte, hjerne og lunger end de øvrige behandlingsgrupper ( $p < 0.05$ ). Den laveste koncentration af  $\alpha$ T blev generelt fundet i mink fra 20 RRRac gruppen ( $p < 0.05$ ), mens der ikke var nogen signifikant forskel mellem 40  $\alpha$ Tac og 40 RRRac grupperne i  $\alpha$ T koncentrationerne i organer og væv.

**Tabel 3. Effekt af behandlingerne på total  $\alpha$ T koncentration i organer og fedtvæv. Resultater er LSmeans og standard afvigelse på rådata.**

	80 $\alpha$ Tac		40 $\alpha$ Tac		40 RRRac		20 RRRac		P-værdi
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Lever	53.5 <sup>a*</sup>	22.3	26.6 <sup>b</sup>	10.8	25.3 <sup>b</sup>	17.2	8.9 <sup>c</sup>	5.2	<0.0001
Bugfedt	76.0 <sup>a</sup>	27.3	49.9 <sup>bc</sup>	11.5	61.6 <sup>ab</sup>	16.7	31.7 <sup>c</sup>	30.9	0.004
Hjerte	17.9 <sup>a</sup>	4.7	13.6 <sup>b</sup>	3.1	13.2 <sup>b</sup>	3.9	4.4 <sup>c</sup>	2.3	<0.0001
Hjerne	13.6 <sup>a</sup>	3.7	8.0 <sup>bc</sup>	2.4	9.6 <sup>b</sup>	3.4	5.8 <sup>c</sup>	2.2	0.0002
Lunger	5.0 <sup>a</sup>	1.4	2.0 <sup>b</sup>	0.7	2.7 <sup>b</sup>	1.2	0.9 <sup>c</sup>	0.6	<0.0001

Forskellige bogstaver indikerer signifikant forskel mellem rækker ( $p < 0.05$ )

Relativt meget  $\alpha$ T blev ophobet i bugfedt sammenlignet med de øvrige organer. Der var ingen signifikant forskel mellem mink fra 80  $\alpha$ Tac gruppen og 40 RRRac gruppen, men 80  $\alpha$ Tac gruppen havde et signifikant højere indhold af  $\alpha$ T end 40  $\alpha$ Tac og 20 RRRac grupperne ( $p < 0.05$ ). Der var ingen signifikant forskel mellem 40 RRRac gruppen og 40  $\alpha$ Tac gruppen, men mink i 40 RRRac gruppen indlejrede 1,2 gange mere  $\alpha$ T i bugfedtet end mink i 40  $\alpha$ Tac gruppen.

Totalkoncentrationen af  $\alpha$ T var signifikant højere hos tæver end hos hanner ( $p < 0.05$ ) og den relative koncentration af RRR- $\alpha$ T var signifikant højere end de øvrige stereoisomerer af  $\alpha$ T. Leveren havde det højeste indhold af 2S stereoisomerer og havde den laveste andel af RRR- $\alpha$ T. Koncentrationen af 2S stereoisomererne var på samme niveau i alle organer og fedtvæv, mens RRS stereoisomerer generelt blev fundet i den næsthøjeste koncentration. Den største diskriminering mellem de forskellige stereoisomerer af  $\alpha$ T blev fundet i hjernen, hvor 2S stereoisomererne kun udgjorde 2 % af totalindholdet af  $\alpha$ T, mens RRR- $\alpha$ T udgjorde ca. 60 %, når  $\alpha$ T kilden i foderet var  $\alpha$ Tac. I bugfedtet var indholdet af RRR- $\alpha$ T signifikant forskelligt mellem behandlingerne og mink i 40 RRRac gruppen havde det signifikant højeste indhold af alle behandlingsgrupper ( $p < 0.05$ ).

Det er alment accepteret at organerne, bortset fra leveren, har præference for at

ophobe den naturlige RRR- $\alpha$ T stereoisomer (Weiser *et al.*, 1996; Jensen *et al.*, 2004). Der er ingen forskel i optageligheden af syntetiske og den naturlige isomere, men de syntetiske nedbrydes og udskilles hurtigere (Traber *et al.*, 1998).

I forsøget her var den relative biotilgængelighed af de forskellige stereoisomere forskellig for plasma og de enkelte organer. Biotilgængeligheden for RRR- $\alpha$ T varierede fra 1.6-3.6 og 2S stereoisomererne varierede fra 0.05-0.8 afhængig af organ og *all-rac*- $\alpha$ -TAc dosis. Dette stemmer overens med undersøgelser i rotter (Jensen *et al.*, 2006).

Det totale indhold af plasma steg indtil august/september, hvorefter det faldt svagt hen mod pelsning, men holdt sig inden for normalværdierne på 10-15  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (Børsting *et al.*, 1998). Det kritiske niveau for mink anses for at ligge nede på 4-6  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (Clausen *et al.*, 2007). Det faldende indhold af  $\alpha$ T i løbet af efteråret tilskrives ændringen i foderets fedtsyresammensætning i slutningen af september, hvor indholdet umættede fedtsyrer stiger som følge den større tildeling af sojaolie (Javouhey-Donzel *et al.*, 1993; Engberg & Børsting, 1994; Wagner *et al.*, 1994). Det lave indhold i plasma hos nogle mink indikerer dog at de laveste tildelinger i forsøget har været i underkanten af behovet. Set over hele forsøgsperioden, ser det ud til at variationen i plasma koncentration indenfor holdene der har fået syntetisk

vitamin E, har varieret mere end holdene der har fået naturligt vitamin E. I fedtvævet deponeres der meget  $\alpha$ T, specielt af den naturlige isomer RRR- $\alpha$ T.

### Konklusion

Det er en omstændelig proces at fastlægge det optimale behov for vitamin E til mink i de forskellige vækstfaser og livscyklus, da behovet for vitamin E er afhængig af forskellige forhold. Der er derfor behov for en passende sikkerhedsmargin. Under forudsætning af foderets kvalitet, herunder fedtets kvalitet, vil det være muligt at reducere den nuværende danske anbefaling på 60 mg kg<sup>-1</sup> *all-rac*- $\alpha$ -TAc i den første periode af vækst og pelssætningsperioden.

Under forudsætning af at de månedlige foderprøver repræsenterer  $\alpha$ T-indholdet i foderet indikerer resultaterne at 15 mg kg<sup>-1</sup> RRR- $\alpha$ -TAc eller 40 mg kg<sup>-1</sup> *all-rac*- $\alpha$ -TAc vil være tilstrækkeligt til at dække minkenes behov fra juli til september.

I pelssætningsperioden skal vitamin E tildelingen øges for at kompensere for det stigende indhold af umættede fedtsyrer i foderet, der foreslås derfor en tildeling på 33 mg kg<sup>-1</sup> RRR- $\alpha$ -TAc eller 62 mg *all-rac*- $\alpha$ -TAc.

### Referencer

Burton, G.W. & Ingold, K.U. 1981 Autoxidation of biological molecules. I. The antioxidant activity of Vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *Journal of American Chemical Society* 103(21), 6472-6477.

Børsting, C.F., Engberg, R.M, Jensen, S.K. & Damgaard, B.M. 1998. Effects of high amounts of dietary fish oil of different oxidative quality on performance and health of growing-furring male mink (*Mustela vison*) and female mink during rearing, reproduction and nursing period. *Journal of Physiology and Animal Nutrition* 79(1-5), 210-223.

Clausen, T.N., Jensen, S.K., Sandbøl, P. & Hejlesen, C. 2007. Effect of the optimal  $\omega$ 6: $\omega$ 3 relationship in feed in the pelt growing period. In: Annual Report 2006. Danish Fur Breeders Research Center Holstebro, 107-114.

Engberg, R.M. & Børsting, C.F. 1994. Inclusion of oxidized fish oil in mink diets. 2. The influence on performance and health considering histopathological, clinical-chemical, and haematological indices. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 72(1-5), 146-157.

Engberg, R.M., Jakobsen, K., Børsting, C.F. & Gjærn, H. 1993. On the utilization, retention and status of vitamin E in mink (*Mustela vison*) under dietary oxidative stress. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 69(1-5), 66-78.

Evans, H.M. & Bishop, K.S. 1922. On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* 56, 650-651.

Ingold, K.U., Burton, G.W., Foster, D.O., Hughes, L., Lindsay, D.A. & Webb, A. 1987. Biokinetics of and discrimination between dietary RRR- and SRR- $\alpha$ -tocopherol in the male rat. *Lipids* 22(3), 163-172.

Javouhey-Donzel, A., Guenot, L., Maupoli, V., Rochette, L. & Rocquelin, G. 1993. Rat vitamin E status and heart lipid peroxidation: Effect of dietary  $\alpha$ -linolenic acid and marine n-3 fatty acids. *Lipids* 28(7), 651-655.

Jensen, S.K. 2008. Improved Bligh and Dyer extraction procedure. *Lipid Technology* 20(12), 280-281.

Jensen, S.K., Hansen, M.U. & Clausen, T. 2004. Vitamin E to mink females and its transfer to kits. In: Annual Report 2004. Danish Fur Breeders Research Center Holstebro, 61-67.

Jensen, S.K. & Lauridsen, C. 2007.  $\alpha$ -tocopherol stereoisomers. In: Gerald Litwack (Ed.), *Vitamins and Hormones* 76 (281-308). San Diego: Elsevier Academic Press Inc.

Jensen, S.K., Nørgaard, J.V. & Lauridsen, C. 2006. Bioavailability of  $\alpha$ -tocopherol stereoisomers in rats depends on dietary doses of all-rac- or RRR- $\alpha$ -tocopheryl acetate. *British Journal of Nutrition* 95(3), 477-487.

Traber, M.G., Elsner, A. & Brigelius-Flohé, R. 1998. Synthetic as compared with natural vitamin E is preferentially excreted as  $\alpha$ -CEHC in human urine: studies using deuterated  $\alpha$ -tocopheryl acetates. *FEBS Letters* 437(1-2), 145-148.

Työppönen, J., Hakkarainen, J., Juokslahti, T. & Lindberg, P. 1984. Vitamin E requirement of mink with special reference to tocopherol composition in plasma, liver, and adipose tissue. *American Journal of Veterinary Research* 45(9), 1790-1794.

Wagner, B.A., Buettner, G.R. & Burns, C.P. 1994. Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: Oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. *Biochemistry* 33(15), 4449-4453.

Weiser, H., Riss, G. & Kormann, A. 1996. Biodiscrimination of the eight alpha-tocopherol stereoisomers results in preferential accumulation of the four 2R forms in tissues and plasma of rats. *Journal of Nutrition* 126(10), 2539-2549.

# Minkens proteinbehov før og efter implantation

Connie Frank Matthiesen & Anne-Helene Tauson

Københavns Universitet. Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet. Institut for klinisk veterinær og husdyrvidenskab, Grønnegårdsvej 3, 1. sal. DK-1870 Frederiksberg C, [cmt@sund.ku.dk](mailto:cmt@sund.ku.dk)

## Sammendrag

Minkens proteinbehov er ikke fuldstændig kendt i alle perioder af produktionscyklussen hvoraf drægtigheden er en af dem. Formålet med nærværende studie var, at bestemme minkens proteinbehov før og efter implantation ud fra antallet af implantationssteder samt fosteroverlevelsen, for at understøtte en høj implantationsrate samt en høj fosteroverlevelse. Et hundrede og seks tæver blev fodret med forskellige proteinniveauer i perioden "før" (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 og 45 % af omsættelig energi (OE) fra protein) og "efter" (20, 25, 30, 35, 40 og 45 % af OE fra protein) implantation. Tæverne blev aflivet i midten eller slutningen af april. Resultaterne viste, at antallet af implantationssteder ikke var påvirket af proteinniveauet i foderet før implantationen, dog var der en tendens til, at proteinniveauet påvirkede fosteroverlevelsen. Dette resulterede i signifikant lavere fosteroverlevelse hos tæver fodret med 15 % af OE fra protein i forhold til tæver fodret med 25-45 %. Fosteroverlevelsen var efter implantationen ikke påvirket af proteinniveauet fra 20-45 % af OE fra protein, dog var fosteroverlevelsen hos tæver fodret med 20 % af OE fra protein efter implantationen numerisk lavere end tæver fodret med proteinniveauer på 25-45 % af OE fra protein. Det kan konkluderes, at implantationen sker trods meget lave proteinniveauer, dog kan fosteroverlevelsen kompromitteres. Da fosteroverlevelsen i studiet "efter implantation" ikke var signifikant påvirket af et proteinniveau på 20-45 % af OE fra protein, indikerer dette, at tævens proteinbehov må være opfyldt.

**Matthiesen, C. F. & Tauson, A.-H. 2016.** Minkens proteinbehov før og efter implantation.

Faglig Årsberetning 2015, 85-89. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

The protein requirements in mink are not fully known in all periods throughout the production cycle out of which the gestation is one. The objective of this study was to determine the protein requirements in mink before and after the implantation in order to support a high implantation and fetal survival rate. A total of 106 females were fed different protein levels before (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 and 45% of metabolizable energy -ME- from protein) and after (20, 25, 30, 35, 40 and 45% of OE from protein) implantation. The females were euthanized in mid-April in the study "before implantation" or in late April in the study "after implantation". Our results showed that the number of implantation sites was not affected by the protein level in the diet before implantation. However, a tendency towards an effect of protein provision on fetal survival rate was noted. This resulted in significantly lower fetal survival rates in females fed 15% of OE from protein compared to females fed 25-45%. The fetal survival rates were not affected by a protein level of 20-45% of the OE from protein after implantation. However, the fetal survival rate in females fed 20% of ME from protein was numerically lower than females fed 25-45% of OE from protein. In conclusion, implantation occurs even when protein provision is low, but fetal survival can be compromised. A protein provision of 20-45% of ME after implantation did not affect the fetal survival rate which indicates that the protein requirements were fulfilled.

**Matthiesen, C. F. & Tauson, A.-H. 2016.** Protein requirements in mink before and after implantation. Annual Report 2015, 85-89. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Protein requirements, gestation, implantation sites, fetus survival

## Indledning

Minken er et rovdyr og har derfor et højere proteinbehov end andre dyrearter, dog afhænger behovet af hvilket stadie af produktionscyklussen minken befinder sig i. Minkens protein- og aminosyrebehov er

endnu ikke fuldstændig kendt i alle dele af minkens produktionscyklus hvoraf drægtigheden er en af dem. Det er velkendt, at reproduktionsresultaterne påvirkes af en række faktorer hvoraf foderet er en af dem. Både den aktuelle



fodring men også minkens huld kan påvirke reproduktionsresultaterne. Fede tæver (Sanne & Åhman, 1966) og tæver der slankes kraftigt inden parring (Tauson & Alden, 1984) kan resultere i dårlige reproduktionsresultater, såsom en stigning i antallet af gølle tæver samt en øget tidlig hvalpedødelighed. Flushing, som består af en periode med let restriktiv fodring efterfulgt af 4-5 dages ad libitum fodring inden parring, kan øge ovulationsraten (Tauson, 1993), tidlig foster udvikling (Tauson & Gustafson, 1994) og kuld størrelsen (Tauson, 1985; Tauson, 1988). Selvom minkens næringsstofbehov i dele af produktionscyklussen er relativt begrænset, har det længe været kendt at næringsstofforsyningen i drægtigheden er vigtig. Tidligere studier har vist, at der har været en tendens til, at et proteinniveau på 25 % af OE fra protein gennem hele drægtigheden har resulteret i dårligere reproduktionsresultater (Glem-Hansen, 1974) eller meget dårlige reproduktionsresultater (Koskinen *et al.*, 2008). Derudover, har 26 % af OE fra protein gennem hele vinteren resulteret i mindre kuld størrelse hos første årstæver, men kun hvis indholdet af essentielle aminosyre samtidigt var lavt (Skrede, 1978). Andre studier har vist, at et lavt proteinniveau de sidste 2/3 af den sande drægtighed resulterer i lavere fødselsvægt og højere goldprocent (14 % af omsættelig energi - OE- fra protein, Matthiesen *et al.*, 2010)

og en højere hvalpedødelighed i laktations-perioden (19 % af OE fra protein, Vesterdorf *et al.*, 2012).

Formålet med nærværende studie var, at bestemme minkens proteinbehov i drægtigheden delt i perioden før implantation og efter implantation for, at understøtte en høj implantation og fosteroverlevelse.

## Metode og materiale

### Dyr og indhusning

Forsøget blev udført på Københavns Universitets forsøgsfarm, Rørrendegård, i Tåstrup. Der indgik i alt 106 brune tæver i forsøget. Seksogtres af tæverne indgik i undersøgelsen af proteinbehovet i perioden "før" implantation og blev aflivet i midten af april og de resterende 40 tæver indgik i undersøgelsen af proteinbehovet "efter" implantationen og blev aflivet i slutningen af april få dage før hvalpning. Tæverne var opstaldet i traditionelle bure med en tæve i hvert bur eller enkeltvis i balancebure. Forsøgsdesignet fremgår af tabel 1.

### Foder

Der blev anvendt 8 forskellige proteinniveauer (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 % af OE fra protein). Fodret blev produceret i foderkøkkenet på Rørrendegård, Tåstrup. Fodersammensætningen ses i tabel 2.

Tabel 1. Forsøgsdesign - antallet af tæver i hver fodringsgruppe i perioden før og efter implantationen

Fodringsgruppe (% af omsættelig energi fra protein)	Før implantationen	Efter implantation
10	4	
15	8	
20	11	8
25	11	8
30	11	8
35	7	8
40	7	4
45	7	4
Total antal tæver	66	40

I undersøgelserne af proteinbehovet "før implantation" blev der anvendt et proteinniveau fra 10-45 % af OE fra protein, i alt 8 forskellige foderblandinger. I undersøgelserne af proteinbehovet "efter implantation" blev der anvendt et proteinniveau fra 20-45 % af OE fra protein, i alt 6 forskellige foderblandinger. Tæverne blev i forsøget omkring

proteinbehovet "før implantation" fodret med de 8 forskellige proteinniveauer fra parring og til og med den 4. april. I forsøget "efter implantation" blev tæverne fodret med de 6 forskellige proteinniveauer (Tabel 1) fra den 6. april og til aflivning i slutningen af april lige før hvalpning.

**Tabel 2. Fodersammensætningen af de 8 forskellige diæter [%]**

	Fordelingen af omsættelig energi fra protein, fedt og kulhydrat							
	10:50:40	15:50:35	20:50:30	25:50:25	30:50:20	35:50:15	40:50:10	45:47:8
Industifisk, 5-8 % fedt	4,2*	16,5	23	36	35	48,5	44,8	45,8
Fjerkræbiprodukt	13,6	5	7	8	10	15	12	12
Byg, poppet	15,7	16	15	14	14	11,3	7,5	6
Fiske mel - LT	2,1	2	2	2	5	5	10	13
Hæmoglobin, Daka		2	2	2	2	2	6,5	7
Majsgluten	0,2	2	4	4	4	4	3	5
Majsolie	9,3	8,5	7,5	6,2	5,7	4	4,8	4
Majsstivelse	8,4	9,5	6,5	3,8	1	0	0	0
Kartoffelmospulver	8,4							
Vitaminer, mineraler	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0-2	0,2
Vand	38	38,3	32,8	23,8	23,1	10	11,2	7

\*fiskebiprodukt

### Aflivning og udtagning af væv

De tæver der indgik i undersøgelsen af proteinbehovet "før implantation" blev aflivet i midten af april og de tæver der indgik i undersøgelsen af proteinbehovet "efter implantation" blev aflivet i afslutningen af april. Tæverne blev, ved forsøgets afslutning, anæstaseret med ketaminol (50mg/kg, Intervet International B.V. Boxmeer, Holland) og xysol (10mg/kg, Scanvet Animal Health, Danmark) og aflivet ved ophør af reflekser i dyb anæstesi. Livmoderen blev efter aflivning taget ud og antallet af implantationssteder samt levende og døde fostre blev registreret.

### Statistiske analyser

De statistiske analyser blev udført i SAS (version 9.3) ved brug af MIXED proceduren med proteinniveau som systemetisk effekt i modellen, et signifikansniveau på 5 % ( $P < 0,05$ ) og en tendens på 1 % ( $P = 0,1$ ).

### Resultater og diskussion

Ved aflivning var der en tæve der ikke havde synlige implantationssteder. De resterende tæver havde alle synlige implantationssteder. Antallet af implantationer, antallet af levende fostre og overlevelsesraten for de to studier er angivet i tabel 3 ("før" implantation) og tabel 4 ("efter" implantation).

Antallet af implantationer var i forsøget med tæverne "før" implantation ikke påvirket af proteinniveauet i foderet fra parring og frem til den 4. april, tabel 3. Dog var der en tendens ( $P = 0,1$ ) til at fosteroverlevelsesraten var påvirket af proteinniveauet, hvilket resulterede i en signifikant lavere fosteroverlevelsesrate hos tæver der var blevet fodret med 15 % af OE fra protein i forsøget "før implantation", i forhold til tæver fodret med 25-45 % af OE fra protein, tabel 3.

**Tabel 3. Antallet af implantationer, antallet af levende foster samt fosteroverlevelseshraten hos tæver fodret med 8 forskellige proteinniveauer fra parring til aflivning i midten af april – studiet "Før" implantation**

<i>n</i> =66	Procent af omsættelig energi fra protein								RR*	P-værdi
	10	15	20	25	30	35	40	45		
Antal implantationssteder	10	8,9	10,1	10,2	11,4	11,3	11,4	11,8	3,6	NS
Antal levende foster	8,2	7,7	8,2	9,7	10,7	10,8	11,0	11,7	3,4	NS
fosteroverlevelseshraten, %	84,6 <sup>ab</sup>	75,5 <sup>a</sup>	85,2 <sup>ab</sup>	96,8 <sup>b</sup>	94,2 <sup>b</sup>	96,5 <sup>b</sup>	97,1 <sup>b</sup>	99,1 <sup>b</sup>	18,2	0,1

Forskellige bogstaver i en række angiver en signifikant forskel (P<0,05). \* kvadratroden af residualet

**Tabel 4. Antallet af implantationssteder antallet af levende foster samt fosteroverlevelseshraten hos tæver fodret med 6 forskellige proteinniveauer fra parring til aflivning i slutningen af april – studiet "Efter" implantation**

<i>n</i> =40	Procent omsættelig energi fra protein						RR*	P- værdi
	20	25	30	35	40	45		
Antal implantationssteder	8,7	8,3	10,6	10,0	9,5	9,0	2,8	NS
Antal levende foster	7,1	7,6	10,1	8,9	9,0	8,5	3,1	NS
fosteroverlevelseshraten, %	81,3	91,4	95,7	89,1	95,4	93,1	19,6	NS

Forskellige bogstaver i en række angiver en signifikant forskel (P<0,05). \* kvadratroden af residualet

I forsøget "efter implantation" blev der anvendt proteinniveauer fra 20-45 % af OE og her blev der ikke fundet nogen effekt af proteinniveauet på antallet af levende foster eller fosteroverlevelseshraten, tabel 4. Imidlertid, var fosteroverlevelseshraten numerisk lavere ved fodring med 20 % af OE fra protein sammenlignet med fosteroverlevelseshraten hos tæver fodret med 25-45 % af OE fra protein. Disse resultater stemmer fint overens med resultaterne tidligere undersøgelse fra Vesterdorf *et al.* (2012).

### Konklusion

Antallet af implantationer var, ud fra nærværende studie, ikke påvirket af proteinniveauet fra parring til implantationen. Dog var der en tendens til en effekt af proteinniveau på fosteroverlevelseshraten, hvilket resulterede i, at tæver fodret med 15 % af OE fra protein havde en signifikant lavere fosteroverlevelseshrate i forhold til tæver fodret med 25-45 % af OE fra protein. Disse resultater viser, at implantationen foregår selv på meget lave proteinniveauer, hvorimod fosteroverlevelsen kan blive

kompromitteret. Proteinniveauet efter implantation var ikke signifikant påvirket af et proteinniveau på 20-45 % af OE fra protein. Ovenstående aflivningsdata skal sammenholdes med en undersøgelse af proteinbehovet ved hjælp af en stabil isotopteknik – indikator aminosyre oxidation – hvor foreløbige data understøtter ovenstående aflivningsresultater.

### Referencer

- Glem-Hansen, N. 1974. Minkens proteinforsyning normer, aminosyre analyser og andre kvalitetskriterier. Hillerød, Denmark: Landoekonomisk forsoegslab.
- Koskinen, N., Valaja, J., Pölönen, I., Mohaibes, M. & Rekilä, T. 2008. DL-methionine supplementation to low protein diets in mink during the breeding season. *Scientifur* 32: 134-138.
- Matthiesen, C.F., Blache, D., Thomsen, P.D., Hansen, N.E. & Tauson A.-H. (2010a). Effect of late gestation low protein supply to mink (*Mustela vison*) dams on reproductive performance and

metabolism of dam and offspring. Archives of Animal Nutrition, 64, 56-76.

Sanne, S. & Åhman, G. (1966). Undersökning av hullets och uppfödningens inverkan på minkhonornas reproduktionsförmåga. Lantbrukshögskolans Meddelanden Serie A, 56:34.

Skrede, A. 1978. Utilization of fish and animal byproducts in mink nutrition. II. Effect of source and level of protein on female reproductive performance, and preweaning growth and mortality of the progeny. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science 28:130-140.

Tauson, A.-H. & Aldén, E. (1984). Pre-mating body weight changes and reproductive performance in female mink. Acta Agric Scand 34:177-187.

Tauson, A.-H. 1993. Effect of body condition and dietary energy supply on reproductive processes in the female mink (*Mustela vison*). J Reprod Fert, Suppl 47:37-45.

Tauson, A.-H. & Gustafsson, H. 1994. Effect of flushing on embryos in early developmental stages in mink (*Mustela vison*). Acta Agric Scand, Sect A, Animal Sci 44:43-9.

Tauson, A.-H. 1985. Effects of flushing on reproductive performance, ovulation rate, implantation rate and plasma progesterone levels in mink. Acta Agric Scand 35:295-309.

Vestedorf, K., Harrison, A., Matthiesen, C. & Tauson A.-H. 2012. Effects of protein restriction *in utero* on the metabolism of mink dams (*Neovison vison*) and on mink kit survival as well as on postnatal growth. Open Journal of Animal Sciences 2:19-31.



## Overførsel af Aleutian Mink Disease Virus med lopper

Christina Marie Hartby<sup>a</sup>, Trine Hammer Jensen<sup>b,1</sup>, Kim Søholt Larsen<sup>c</sup>, Mette Sif Hansen<sup>a</sup>, Mariann Chriél<sup>a</sup>, Lars Erik Larsen<sup>a</sup>, Tina Struve<sup>d</sup> & Charlotte Kristiane Hjulsager<sup>a</sup>

<sup>a</sup>DTU Veterinærinstituttet, Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C

<sup>b</sup>Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet/<sup>1</sup>Aalborg Zoo, 9000 Aalborg

<sup>c</sup>KSL Consulting, Ramløsevej 25, 3200 Helsingør

<sup>d</sup>København Diagnostik, Langagervej 60, 2600 Glostrup

### Sammendrag

Vi ønskede at undersøge, om Aleutian mink disease virus (AMDV) kan overføres med lopper fra mink til mink og derved fra farm til farm. Ved eksperimentel undersøgelse blev seks mink tæver inficeret med Saeby/DEN/799.1/05 stammen og påsat AMDV-negative lopper. Lopperne blev indsamlet igen og sat på seks AMDV-negative mink tæver, der var opstaldet i anden isolationsstald. For at undersøge om virus blev overført til modtagerminkene, blev lopper, blodprøver, næse/mundsvaberprøver, fæcesprøver og vævsprøver undersøgt med PCR for tilstedeværelse af virus-DNA. Endvidere blev blodprøverne testet for antistoffer med CIEP-metoden. Seks ud af seks modtagermink blev fundet positive for AMDV DNA i mindst ét organ efter påsætning af lopper fra virus-positive mink. Ingen af minkene, der modtog de AMDV-positive lopper, serokonverterede eller blev fundet positive for virus-DNA i blodet før afslutning af forsøget. Vores resultater viser, at det er muligt at lopper kan overføre AMDV fra smittede mink til plasmacytose-frie mink.

**Hartby, C. M., Jensen, T. H., Larsen, K. S., Hansen, M. S., Chriél, M., Larsen, L. E., Struve, T. & Hjulsager, C. K. 2016.** Overførsel af Aleutian Mink Disease Virus med lopper. Faglig Årsberetning 2015, 91-94, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

### Abstract

We aimed to investigate if Aleutian mink disease virus (AMDV) could be transferred with fleas from mink to mink and thereby from farm to farm. Six mink females were injected with the virus strain Saeby/DEN/799.1/05 and AMDV-negative fleas were added in the pelt of the mink. The fleas were collected again and transferred to an AMDV-negative recipient group of six mink females housed separately from the infected mink. Fleas, blood samples, oronasal swabs, fecal samples and tissue samples were tested by PCR for the presence of virus-DNA. The blood samples were tested for antibodies using the CIEP method. Six out of six recipient mink were positive for AMDV DNA in at least one tissue sample after transfer of fleas from virus-positive mink. None of the recipient mink seroconverted or were found positive for virus DNA in the blood before the study was terminated. Our results show, that it is possible for fleas to transfer AMDV from infected mink to non-infected mink.

**Hartby, C. M., Jensen, T. H., Larsen, K. S., Hansen, M. S., Chriél, M., Larsen, L. E., Struve, T. & Hjulsager, C. K. 2016.** Transmission of Aleutian Mink Disease Virus with fleas. Annual Report 2015, 91-94, København Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** AMDV, plasmacytosis, fleas, experimental chronic infection, *Ceratophyllus sciurorum*

### Baggrund

Aleutian mink disease virus (AMDV), der forårsager plasmacytose, kan være et persisterende problem på minkfarme, og selv efter grundig rengøring og sanering kan der ses re-infektion i farmen. AMDV er et meget stabilt virus i miljøet og tåler høje temperaturer og kemisk behandling (Canuti et al. 2015). Et simuleringsstudie af smittespredning med plasmacytose mellem farme har vist, at det hovedsageligt var lokalsmitten og tiden

mellem detektion og sanering, der drev spredningen (Boklund et al. 2015). Lokalsmitte var defineret som den trafik af såvel vilde som tamme dyr, der kan være ind på farmområdet (Boklund et al. 2015).

Mink er vært for egermloppen (*Ceratophyllus sciurorum*, figur 1), og infestation optrådte hvert eller næsten hvert år på 34 % af 151 farme, der medvirkede i en interviewundersøgelse i 2014. Problemet blev på 29 farme oplevet

som "kræver ekstra opmærksomhed og handling" eller "uløseligt" (Knorr et al. 2014).



Figur 1. Egernloppen *Ceratophyllus sciurorum*. Foto: Kim Søholt Larsen

Andre blodsugende insekter, så som myg, er kendte vektorer for spredningen af virus blandt dyr og mennesker. I nogle tilfælde kan der ses en egentlig opformering af virus i vektoren f.eks. Bluetongue virus, der overføres med *Culicoides* mitter (Mellor 1990). Andre vektorer overfører dog blot virus rent mekanisk f.eks. som en mekanisk overførsel af myxomatosevirus via kaninloppens munddele (Chapple & Lewis 1965). Undersøgelse af lopper fra en mink, der var inficeret med hvalpesygevirus viste, at disse var positive for den samme virus og derfor kan være en mulig vektor for smitte med hvalpesygevirus og/eller andre virus (Trebbien et al. 2014). Det har ikke tidligere været dokumenteret, at lopper kan overføre plasmacytosevirus, men det er formodet at lopper kan være en vektor for AMDV (Larsen et al. 2005).

Formålet med dette studie var at undersøge om lopper (*Ceratophyllus sciurorum*) kan overføre AMDV fra eksperimentelt inficerede mink til naive mink.

## Materialer og metoder

### Mink og lopper

I alt 14 voksne minktæver fra en plasmacytosefri besætning blev fordelt i tre

isolationsstalde. Minkene blev opstaldet i bure enkeltvis: mink 1-2 (brown, negativ kontrol), mink 3-8 (brown, donormink), mink 9-14 (sapphire, modtagermink). Lopper (*Ceratophyllus sciurorum*) blev indsamlet fra farme fri for plasmacytose.

### Testmetoder

Undersøgelse for antistoffer mod AMDV blev foretaget med en modificeret protokol af modstrømsselektroforese (CIEP) først beskrevet af Cho & Ingram (1972). PCR test til detektion af AMDV DNA blev foretaget på DTU Veterinærinstituttet som beskrevet i Jensen et al. (2011).

### Infektion af donor mink med AMDV virus

Mink 3-8 blev smittet med AMDV-virusstammen Saeby/DEN/799.1/05 ved injektion i bughulen som beskrevet i Jensen et al. (2014).

### Loppeoverflytning og aflivning

Tre uger efter virus-injektionen blev ca. 100 AMDV-negative lopper sat på hver donormink nr. 3-8. Endvidere blev der overført 100 lopper til de to negativ-kontrol mink 1 og 2. Efter tre dage blev lopperne indsamlet fra de smittede donormink og deres redemateriale og flyttet til modtagermink 9-14. Hver modtagermink fik kun lopper fra én bestemt donormink (én-til-én). Forsøget blev afsluttet 3 uger senere, og lopper blev indsamlet fra modtagerminkene og redematerialet.

Donorminkene blev aflivet straks efter loppeoverflytningen og modtageminkene samt kontrolminkene blev aflivet ved forsøgets afslutning.

### Prøveudtagning

Minkene fik taget blodprøve ugentligt. Fæcesprøver og næse/mundsvabere blev taget på samme dage som blodprøverne. Lopper blev taget fra og testet med PCR inden loppepåsætning og ved overflytning samt ved aflivning. Ved forsøgets afslutning blev alle minkene obduceret og

organprøver (lunge, tarm, krøslymfeknude, nyre, lever og milt) taget ud til PCR test.

## Resultater

### Blodprøver

Alle mink var negative for antistoffer i blodet med CIEP test ved forsøgets start. Alle blodprøver fra mink 1-2 (kontrolmink) og 9-14 (modtagermink) var herefter fortsat negative med CIEP test og desuden negative for virus i blodet med PCR. Donorminkene nr. 3 og 5-8 var PCR positive i blodet senest ved tidspunktet for loppepåsætning og antistofpositive senest yderligere en uge efter (3 uger efter virusinokulering). Donormink nr. 4 var negativ i såvel CIEP som PCR i hele forsøget.

### Vævsprøver

Vævsprøver udtaget ved forsøgets afslutning fra begge kontrolmink var negative for AMDV virus-DNA. Donorminkene, der var blevet smittet med virus ved injektion var virus-positive i alle organer ved aflivning efter loppeoverførslen, med undtagelse af mink 3, der havde en negativ milt-prøve og mink 4, der kun fik påvist virus i leveren. De seks mink, der havde fået overført lopper fra donormink var alle positive i mindst ét af de undersøgte organer.

### Lopper

Der blev med PCR påvist AMDV DNA i ekstrakt fra lopper indsamlet fra hver af de seks donormink på tidspunktet for overflytning af lopper. Lopper fra de to kontrolmink var PCR negative. Der kunne ikke påvises AMDV DNA med PCR i lopperne indsamlet direkte fra modtagermink eller fundet i redematerialet ved forsøgets afslutning (uge 6).

## Diskussion

Vi har i dette studie anvendt modellen for kronisk plasmacytose beskrevet i Jensen *et al.* (2014). Det er bemærkelsesværdigt, at mink 4 tilsyneladende ikke blev smittet

ved den anvendte dosis af virus, hvis man udelukkende ser på resultatet af blodprøveundersøgelserne. Imidlertid viste en PCR-undersøgelse af både leveren og lopperne fra minken et positivt resultat. Ved senere blodprøvetest kunne minken muligvis have testet positivt, men dyrene blev aflivet efter 24 dage. Det er i et tidligere studie af kronisk plasmacytose set, at mink, der smittes ved injektion, kan være 4 uger om at serokonvertere (Jensen *et al.* 2014), hvorimod virus i blodet senest fremkom 3 uger efter virusinjektion. Det er muligt at mink 9-14, der modtog lopper fra mink 3-8, også ville have fået virus i blodet og have dannet antistoffer senere i forløbet, da dyrene i dette forsøg allerede blev aflivet 20 dage efter loppepåsætning. Selv om modtagerminkene 9-14 ikke testede positive i blodprøverne, viste forsøget imidlertid, at virus kunne findes i organer hos dyrene alligevel. Dette er et tegn på, at infektionen først kan findes i en blodprøve efter at virus har været til stede i organerne i en periode.

Lopperne var AMDV DNA positive i PCR-test umiddelbart efter indsamling fra de smittede donormink, men efter 20 dage kunne der ikke påvises virus med den anvendte PCR test. Dette kunne skyldes, at lopperne havde rensat sig for smitte, eller at de kun bar eller indeholdt så lille en mængde virus, at testen ikke kunne påvise det. Forsøget kan ikke dokumentere, om virus blev overført rent mekanisk på ydersiden af lopperne, eller om lopperne overførte virus gennem spyttet ved loppebid. Sidstnævnte synes mindre sandsynligt, da lopperne var negative ved forsøgets afslutning. Egernlopper har flere arter af værtsdyr, der kan findes på danske minkfarme bl.a. fugle, så som stære, krager og spurve, og de er også fundet på katte, rotter og mus (Larsen, 1995). Hvis lopper kan overføre virus fra mink til mink, som vores forsøg viser, kan yderligere spredning fra farm til farm potentielt ske via de andre værtsdyr.



Mennesker kan imidlertid også bære lopperne rundt mellem farmene og derved muligvis bidrage til en spredning af virus.

### Konklusion

I denne forsøgsopsætning blev seks ud af seks mink positive for AMDV DNA i mindst ét organ efter påsætning af lopper fra eksperimentelt smittede mink.

Vores resultater dokumenterer, at lopper kan overføre Aleutian mink disease virus fra smittede mink til plasmacytose-frie mink. Yderligere undersøgelser af, hvor længe virus kan forblive i eller på lopperne, er relevant for kontrol med plasmacytose. Vores studie tydeliggør behovet for effektiv rengøring og vektor-kontrol ved sanering efter plasmacytose-udbrud og nødvendigheden af en effektiv smittebeskyttelse for at hindre introduktion og spredning af smitte.

### Efterskrift

Undersøgelsen var finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden.

### Referencer

Boklund, A., Halasa, T., Struve, T., Østergaard, J., Clausen, J., & Chriél, M. (2015). Simulering af tiltag til bekæmpelse af plasmacytose i mink. *Faglig Årsberetning 2014*, 117-123. København Forskning.

Canuti, M., Whitney, H. G., & Lang, A. S. (2015). Amdoparvoviruses in small mammals: expanding our understanding of parvovirus diversity, distribution, and pathology. *Frontiers in Microbiology* 2015, 6, 1–9.

Chapple, P. J., & Lewis, N. D. (1965). Myxomatosis and the Rabbit Flea. *Nature* 1965, 207, 388–389.

Cho, H. J., & Ingram, D. G. (1972). Antigen and antibody in Aleutian disease

in mink. I. Precipitation reaction by agar-gel electrophoresis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 108(2), 555–7.

Jensen, T. H., Hammer, A. S., & Chriél, M. (2014). Monitoring chronic infection with a field strain of Aleutian mink disease virus. *Veterinary Microbiology*, 168(2-4), 420–427.

Jensen, T. H., Christensen, L. S., Chriél, M., Uttenthal, Å., & Hammer, A. S. (2011). Implementation and validation of a sensitive PCR detection method in the eradication campaign against Aleutian mink disease virus. *Journal of Virological Methods*, 171(1), 81–85.

Knorr, M., Rasmussen, A., & Larsen, K. S. (2014). *Minkfarme og skadedyr - en interviewundersøgelse*, 10-15, KSL Consulting

Larsen, K. S. (1995). Loppebekæmpelse på farmen. *Dansk Pelsdyravl* 1995, (2), 91.

Larsen, K. S., Siggurdsson, H., & Mencke, N. (2005). Efficacy of imidacloprid, imidacloprid/permethrin and phoxim for flea control in the Mustelidae (ferrets, mink). *Parasitology Research* 2005, 97, 107–112.

Mellor, P. S. (1990). The replication of bluetongue virus in Culicoides vectors. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 1990, 162, 143–161.

Trebbien, R., Chriél, M., Struve, T., Hjulsgager, C. K., Larsen, G., & Larsen, L. E. (2014). Wildlife reservoirs of canine distemper virus resulted in a major outbreak in Danish farmed mink (Neovison vison). *PLoS ONE* 2014, 9(1)

# ***Arcanobacterium phocae* infektioner hos danske mink**

*Bettina Nonnemann, Mariann Chriél, Gitte Larsen, Mette Sif Hansen, Elisabeth Holm & Karl Pedersen*

DTU Veterinærinstituttet, DTU Danmark, Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C, Danmark

## **Sammendrag**

I 2015 forekom der flere tilfælde af sygdom i danske minkfarme med bakterien *Archanobacterium phocae*. Bakterien er ikke tidligere påvist i Danmark, men er i løbet af 2015 fundet på 12 farme. De typiske fund er pododermatitis, men hudbetændelse andre steder på kroppen er også set, ligesom bakterien kan være findes i andre organer, såsom næse og lever. Fund i leveren tyder på at bakterien kan spredes med blodet (blodforgiftning). Det er uvist, hvor bakterien kommer fra, og hvorvidt den har været til stede før, men uden at blive diagnosticeret.

**Nonnemann, B., Chriél, M., Larsen, G., Hansen, M.S., Holm, E. & Pedersen, K. 2016.** *Arcanobacterium phocae* infektioner hos danske mink. Faglig årsberetning 2015, 95-99, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

## **Abstract**

We here report the first outbreaks of infections caused by *Arcanobacterium phocae* in mink farms in Denmark. The outbreaks have affected at least twelve farms. Main clinical findings included necrotizing pododermatitis and in some animals dermatitis located to other body sites. The bacterium could be isolated from affected skin samples and, in some animals also from internal organs, such as the liver, indicating a systemic spread. The origin of the infection has not been traced.

**Nonnemann, B., Chriél, M., Larsen, G., Hansen, M.S., Holm, E. & Pedersen, K., 2016.** *Arcanobacterium phocae* infections in Danish mink. Annual Report 2015, 95-99. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Mink, *Arcanobacterium phocae*, necrotizing pododermatitis

## **Indledning**

Hudinfektioner er ikke ualmindelige hos mink, og de kan have væsentlig betydning, idet de forringer såvel dyrevelfærd som kvaliteten og værdien af skindene. Velkendte hudlidelser hos mink er således blandt andet fedtede hvalpe (Englund *et al.* 2002) og inficerede bidsår (Hansen *et al.* 2014,). Bidsår forekommer sporadisk, om end brune mink synes mere aggressive og derfor kan have større tendens til bidsår (Hansen *et al.* 2014). Bakterier, som ofte ses i forbindelse med hudinfektioner er hyppigt *Staphylococcus delphini* og *Streptococcus canis* (Brøer, 2000). Disse bakterier ses også ved andre almindelige former for infektioner, såsom urinvejsinfektioner, lungebetændelse, brysthindebetændelser eller yverbetændelse (Pedersen *et al.* 2007). En ny type svær hudbetændelse, kaldet pyodermi, blev observeret hos pelsdyr i Finland i 2007. Tidligere er lignende fund rapporteret fra mink i USA i 1970 og Canada i midten af

90'erne (Brøjer, 2000). For nyligt rapporterede Norgreen *et al.* (2014) *Arcanobacterium phocae* som potentiel kausal patogen for "fur animal epidemic necrotic pyoderma" (FENP), som jævnligt blev observeret på poter og hud i hovedet. FENP er også for nyligt beskrevet i danske mink (Hammer *et al.* 2015). Denne form for hudbetændelse har vist sig vanskelig at behandle og har tendens til at sprede sig indenfor og imellem farme med dårlig sundhed og økonomiske tab til følge (Nordgren *et al.* 2014). *A. phocae* er en gram-positiv, ubevægelig, katalase positiv, coryneform bakterie, som vokser på blodagar med pin-point små beta-hæmolytiske kolonier (Johnson *et al.* 2003). *A. phocae* blev første gang isoleret fra sæler og beskrevet som en ny art i 1997 på basis af 16S rRNA phylogenetiske analyser af slægten *Actinomyces* (Ramos *et al.* 1997). Den formodede sammenhæng mellem *A. phocae* hos mink og sæler er, at sælkød historisk har været brugt som

god proteinkilde i foder, og Canadiske minkavlere begyndte at bruge sælkød som proteinkilde i minkfoder i midt 1990'erne, hvilket nogenlunde faldt sammen med de første beretninger om pododermatitis i canadiske mink (Bröjer, 2000). Vi beskriver her danske fund af *A. phocae* associeret med pododermatitis, som blev diagnosticeret i mink indsendt til diagnostisk undersøgelse ved DTU Veterinærinstituttet i 2015.

## Materiale og metoder

### Dyr

Femten voksne og otte unge mink kadavere fra 12 farme blev indsendt til DTU Veterinærinstituttet, til laboriemæssig undersøgelse, og dyrene blev her underkastet obduktion og mikrobiologisk undersøgelse. Dyrene var enten selvdøde eller var blevet aflivet på grund af alvorlige læsioner.

### Patologisk undersøgelse

Kadaverne blev underkastet standard obduktion. Væv fra lunge, lever, milt, tarmafsnit (duodenum og ileum), nyre, hud og/eller poter blev udtaget og fikseret i 10 % neutral buffret formalin, dehydreret, indlejret i paraffin og lavet til 3-5 µm tynde snit. Snittene blev monteret på konventionelle objektglas og farvet med hæmatoxylin og eosin (HE) til standard histopatologisk undersøgelse.

### Bakteriologisk undersøgelse

Materiale fra hud og indre organer blev taget fra til bakteriologisk undersøgelse ved udsæd på Columbia agar med 5 % kalveblod (SSI Diagnostica, Hillerød, Danmark) og Drigalski agar (SSI Diagnostica) og inkuberet aerobt ved 37 °C. Pladerne blev aflæst efter 16 - 20 timer og reinkuberet og aflæst igen efter yderligere 24 timer. Kolonier suspekter for patogene bakterier blev reinkuberet på blodagar, hvorefter de blev identificeret ved matrix-assisted laser desorption / ionization massespektrometri (MALDI-TOF MS) (Bizzini *et al.* 2010).

### Virologisk undersøgelse

Mistanke om influenza gav anledning til virologisk undersøgelse af to dyr. Undersøgelse for antistoffer mod AMDV blev foretaget med en modificeret protokol af modstrøms elektroforese (CIEP) først beskrevet af Cho & Ingram (1972).

## Resultater

### Patologi

Kadaverne var generelt i god foderstand med moderate fedtdepoter under huden og i bughulen. Varierende grader af hudbetændelse med pusdannelse og vævshenfald blev observeret på poter og hud (Figur 1 og 2). Andre almindelige patologiske fund var blodophobning i lever og milt samt skorper på snuden, men derudover var fundene ret forskelligartede.



Figur 1. Minkpote med typisk sårinfektion med *Arcanobacterium phocae*



Figur 2: Sår på forben efter infektion med *Arcanobacterium phocae*

Forandringerne i huden varierede fra fugtig hud hos nogle dyr på bagparten eller poterne til lokal hudbetændelse med pusdannelse, decideret afstødning af større hudområde med pusophobning mellem hud og underliggende væv eller større sårddannelser. Histopatologisk undersøgelse af hudlæsionerne viste dybtgående betændelsesreaktioner med pusdannelse og vævssdød.

Hos flere af dyrene (5 ud af 23) fandtes der tørre skorper på snuden, og hos to af dem desuden pus i næsen. To af dyrene havde brysthulen fyldt med pus og en plumret væske blev fundet i lungerne på to af dyrene (pleuraempyem). Flere af dyrene havde tillige forandringer i lungerne.

I lever og nyrer fra et af dyrene fandtes forandringer, som tydede på infektion med plasmacytose.

#### *Virologisk og serologisk undersøgelse*

I alt blev 19 af de 23 dyr testet for plasmacytose. Kun ét dyr med tydelige forandringer i organerne, der tydede på plasmacytose, var positiv. To dyr blev undersøgt for influenza grundet en mistanke, men med negativt resultat.

#### *Bakteriologisk undersøgelse*

Dyrkning fra hudlæsioner viste vækst af pin-point, beta-hæmolytiske, hvide kolonier, knap synlige efter et døgn inkubation, men klart synlige efter to dages inkubation. Disse kolonier kan nemt blive overset og overvokset af ledsageflora, eller forvekslet med andre bakterier, så som hæmolytiske streptokokker. Mange prøver viste desuden vækst af beta-hæmolytiske streptokokker og/eller hæmolytiske stafylokokker. Kolonier blev rendyrket og identificeret ved brug af MALDI-TOF. Kolonierne blev identificeret som *Arcanobacterium phocae*, mens andre sygdomsfremkaldende bakterier blev identificeret som *Streptococcus canis* og

*Staphylococcus delphini*. *A. phocae* blev ikke kun påvist i hudlæsioner, men også i andre organer, dvs. lungerne af fem dyr, leveren hos et dyr, brysthulen på tre dyr, og næse eller næsesvaber fra tre dyr.

#### **Diskussion**

*A. phocae* blev oprindeligt påvist i sæler (Ramos *et al.* 1997), men er i de senere år blevet en vigtig sygdomsfremkaldende bakterie ved sår hos mink i både Europa (Nieto *et al.* 2007) og Canada (Chalmers *et al.* 2015). Historisk, i hvert fald hos sæler, er *A. phocae* fejlagtigt blevet misidentificeret som *Listeria ivanovii* (Johnson *et al.* 2003), der ellers kun er kendt som patogen hos drøvtyggere og mennesker (Guillet *et al.* 2010, Schröder *et al.* 2003). Det er derfor muligt, at *A. phocae* har været til stede tidligere, men er enten blevet overset eller fejlidentificeret.

I denne undersøgelse blev *A. phocae* identificeret i 23 dyr, ikke blot fra hud og poter, men også fra andre organer. Dette er første rapport om fund af *A. phocae* hos mink uden tegn på pododermatitis. Fund af *Streptococcus canis* og *Staphylococcus delphini* på huden og i næsen hos mange af dyrene er i overensstemmelse med tidligere observationer for pododermatitis (Chalmers *et al.* 2015), ligesom disse bakterier er velkendte patogener hos mink (Pedersen *et al.* 2009). Et fælles fund hos de fleste af dyrene var en alvorlig betændelse på poter og hud, og det må konkluderes, i overensstemmelse med tidligere resultater (Brøjer 2000, Chalmers *et al.* 2015), at denne var forårsaget af *A. phocae*, *Staphylococcus schleiferi* og *Streptococcus canis*. Det er dog stadig uklart, præcist hvordan sygdommen opstår, og hvordan bakterierne kommer ind. Der formodes at være tale om en multifaktoriel sygdom, hvor genetiske faktorer eller immunstatus kan spille en rolle. Mange streptokokker og stafylokokker er kendte kommensaler på



huden, men kan blive sygdomsfremkaldende, hvis huden bliver beskadiget, f.eks. i forbindelse med bidsår, men den præcise samspil mellem streptokokker, stafylokokker og *A. phocae* er ikke kendt og kræver nærmere undersøgelser.

### Konklusion

*A. phocae* er ikke et sjældent fund hos mink. Bakterien kan isoleres fra sår, der ikke vil hele op, men også i næsehulen fra dyr med næseflåd.

### Efterskrift

Vi vil gerne rette en stor tak til dygtige praktiserende dyrlæger og minkavlere, der sikrer indsendelse af mink til diagnostisk undersøgelse.

### Referencer

Bizzini, A., Durussel, C., Bille, J., Greub, G. & Prod'hom, G., 2010. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of bacterial strains routinely isolated in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 48, 1549–1554.

Bröjer, C., 2000. Pododermatitis in farmed mink in Canada. University of Guelph, Canada.

Chalmers, G., McLean, J., Hunter, D.B., Brash, M., Slavic, D., Pearl, D.L. & Boerlin, P., 2015. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus canis*, and *Arcanobacterium phocae* of healthy Canadian farmed mink and mink with pododermatitis. *Can. J. Vet. Res.* 79, 129–135.

Cho, H. J., & Ingram, D. G. (1972). Antigen and antibody in Aleutian disease in mink. I. Precipitation reaction by agar-gel electrophoresis. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md.: 1950), 108(2), 555–7.

Englund, L., Chriél, M., Dietz H.H. & Hedlund, K.O., 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. *Vet. Microbiol.* 85, 1–11.

Guillet, C., Join-Lambert, O., Le Monnier, A., Leclercq, A., Mechaï, F., Mamzer-Bruneel, M.F., Bielecka, M.K., Scotti, M., Disson, O., Berche, P., Vazquez-Boland, J., Lortholary, O. & Lecuit, M., 2010. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii*. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 136–138.

Hammer, S.A., Aalbæk, B., Damborg, P., Andresen L, Calusen, T., Jensen, M.K., Struve, T. & Elbek, P., 2015. Ny type hudbetændelse påvist som årsag til alvorlige sår. *Dansk Pelsdyravl*, Februar, 32–33.

Hansen, S.W., Møller, S.H. & Damgaard, B.M., 2014. Bite marks in mink—Induced experimentally and as reflection of aggressive encounters between mink. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 158, 76–85.

Johnson, S.P., Jang, S., Gulland, F.M.D., Miller, M.A., Casper, D.R., Lawrence, J. & Herrera, J., 2003. Characterization and clinical manifestations of *Arcanobacterium phocae* infections in marine mammals stranded along the central California coast. *J. Wildl. Dis.* 39, 136–144.

Nieto, J.M., Fraílde, L.D., Losada, A.P., López-Peña, M., Vázquez, S., Bermúdez, R., Quiroga, M.I. & Fernández-Antonio, R., 2007. Pododermatitis in farmed mink (*Mustela vison*) in Spain. *European Society of Veterinary Pathology 26th Meeting*, 17 -21 September, Dubrovnik, Croatia, P133.

Nordgren, H., Aaltonen, K., Sironen, T., Kinnunen, P.M., Kivistö, I., Raunio-Saarnisto, M., Moisander-Jylhä, A.-M., Korpela, J., Kokkonen, U.-M., Hetzel, U., Sukura, A. & Vapalahti, O., 2014.

Characterization of a new epidemic necrotic pyoderma in fur animals and its association with *Arcanobacterium phocae* infection. PLoS One 9:e110210.

Pedersen, K., Hammer, A.S., Sørensen, C.M. & Heuer, O.E., 2009. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink. Vet. Microbiol. 133, 115–122.

Ramos, C.P., Foster, G. & Collins, M.D., 1997. Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16S rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov.,

and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 47, 46–53.

Salih, M.M., Friis, N.F., Arseculeratne, S.N., Freundt, E. & Christiansen C., 1983. *Mycoplasma mustelae*, a new species from mink. Int. J. Syst. Bacteriol. 33, 476–479.

Schoder, D., Winter, P., Kareem, A., Baumgartner, W. & Wagner, M., 2003. A case of sporadic ovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes* and its effect on contamination of raw milk and raw-milk cheeses produced in the on-farm dairy. J. Dairy Res. 70, 395–401.



# Forbedret diagnostik af mink enteritis virus (MEV)

Lise Kirstine Kvisgaard, Elisabeth Holm, Mariann Chriél, Lars Erik Larsen & Charlotte Kristiane Hjulsager

Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet (DTU), Bülowsvej 27, 1780 Frederiksberg C, Danmark

## Sammendrag

Virus enteritis hos mink skyldes infektion med en parvovirus - mink enteritis virus (MEV). Indtil 1. marts 2015 blev virus enteritis diagnostik udført på DTU Veterinærinstituttet ved detektion af virus i fæcesprøver eller tarmindehold fra mink med antigen ELISA. En ny test baseret på real-time PCR er blevet udviklet og valideret til påvisning af MEV. PCR assayet har vist sig at være meget mere følsomt (sensitivt) end den antigen ELISA der tidligere blev brugt til påvisning af MEV. Siden 1. marts 2015 er rutinemæssige diagnostiske undersøgelser for MEV, udført på DTU Veterinærinstituttet, foretaget med det beskrevne real-time PCR assay.

**Kvisgaard, L.K., Holm, E., Chriél, M., Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2016.** Forbedret diagnostik af mink enteritis virus (MEV). Faglig Årsberetning 2015, 101-104, København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

Virus enteritis in mink is caused by infection with a parvovirus called mink enteritis virus (MEV). Until Marts 1<sup>st</sup> 2015, virus enteritis was diagnosed by detection of virus in feces and intestinal content samples from mink using an antigen ELISA at the National Veterinary Institute in Denmark, DTU. In the present study, a new method for detecting MEV based on real-time PCR was developed. The MEV real-time PCR was shown to be much more sensitive compared to the antigen ELISA. Since Marts 1<sup>st</sup> 2015 the real-time PCR assay has been used as routine diagnostic test to detect MEV at the National Veterinary Institute, DTU.

**Kvisgaard, L.K., Holm, E., Chriél, M., Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2016.** Improved diagnostics of mink enteritis virus (MEV). Annual Report 2015, 101-104, Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Mink enteritis virus, MEV, real-time PCR, mink, diagnostics, diarrhea

## Indledning

Virus enteritis hos mink skyldes infektion med mink parvo enteritis virus (MEV), en sygdom som har været kendt siden 1947 (Hoelzer and Parrish, 2010). MEV tilhører slægten Parvovirus indenfor Parvoviridae familien og er en lille virus uden kappe med et negativt orienteret enkelt-streget DNA genom på omkring 5 kilobaser (kb) (Tijssen, 1999). Virus udskilles i fæces og er meget stabilt, hvorfor det kan overleve i adskillige år ved 4 °C. Det tåler indtørring og derved er der en risiko for at virus kan overføres med fodtøj, transportkasser og andre redskaber, som har haft kontakt med inficeret afføring (Dietz *et al.*, 2006). De kliniske tegn på infektion med MEV viser sig ved diarré, som ofte er blodig. Et meget karakteristisk klinisk symptom ved en MEV infektion er afstødning af tarmvæg som fremstår som lange lysgule klatter ("rejer"), hvori der sidder blod, som kaldes *proteinaceous casts* (Dietz *et al.*, 2006).

Dødeligheden blandt helt unge hvalpe er op til 10 %, og overlevende dyr bliver ofte afmagrede, pga. varig skade af tarmslimhinden, som betyder nedsat evne til at optage væske og næringsstoffer (Dietz *et al.*, 2006). Som følge af disse skader, vil mink som overlever MEV infektion være mindre ved pelsning end dyr, som ikke har været inficeret. Endvidere vil kvaliteten af deres skind være forringet.

Inkuberingstiden for MEV er 4-10 dage og dyrene udskiller kun virus i fæces i mindre end 24 timer typisk 3-5 dage efter minken er smittet. De første kliniske tegn på sygdom ses først når virusudskillelsen er på sit højeste (Dietz *et al.*, 2006).

Der er stor effekt af vaccination til kontrol af MEV udbrud, og der findes flere inaktiverede vacciner på markedet. Dødsfald ophører først 5-10 dage efter



vaccination og effekten af en vaccination er bedst ved tidlig diagnosticering.

Det kan være svært klinisk at skelne virus enteritis betinget diarré fra andre årsager til diarré. For at stille den korrekte diagnose kan fæcesprøver eller kadavere indsendes til undersøgelse for MEV på DTU Veterinærinstituttet. Dette vil give avleren mulighed for at vælge mellem vaccination mod MEV eller behandling med antibiotika, hvis det ikke er MEV. Foruden kliniske mistanker om MEV undersøger DTU Veterinærinstituttet også fæcesprøver i forbindelse med eksport af levende dyr til enkelte lande med krav om negativ test for MEV.

Siden 1. september 2011 er der på DTU Veterinærinstituttet undersøgt ialt 115 indsendelser af farmede mink med antigen ELISA, heraf blev MEV påvist i en enkelt indsendelse. Da denne metode ikke er følsom i den akutte fase af et udbrud, blev der udviklet en ny metode til detektion af MEV baseret på real-time PCR.

Formålet med denne undersøgelse er at validere real-time PCR og MEV antigen ELISA.

## Materialer og metoder

### *Real-time PCR*

Et dual-labeled real-time assay blev designet ud fra MEV DNA sekvenser, der var tilgængelige i GenBank. Primerne blev designet ud fra et konserveret område i genomet vha. det webbaserede primerdesign værktøj Primer3plus ([www.primer3plus.com](http://www.primer3plus.com)). Proben blev designet manuelt ud fra placeringen af primerne.

Real-time PCR blev kørt på en Rotorgene Q real-time PCR maskine med JumpStart PCR kit fra Sigma-Aldrich på 2 µl DNA oprenset fra 10 % fæcesopløsning med QIASymphony pathogen DSP kittet på QIASymphony ekstraktionsrobotten.

Sensitiviteten af assayet blev testet på et plasmid indeholdende DNA sekvensen af PCR amplikonet inkl. primer og probe bindingssteder. Specificiteten af assayet blev undersøgt ved at bekræfte positive fund med sekventering.

### *Afprøvning af metoden*

Real-time PCR blev sammenlignet med antigen ELISA (DTU VET in house sandwich ELISA) ved test af en 10-folds fortyndingsrække af MEV i negativ minkfæces. Antigen ELISA'en blev også testet på en 2-folds fortyndingsrække.

Desuden blev 246 arkivprøver fra mink med og uden diarré testet med real-time PCR. Heraf var 114 prøver tidligere testet i antigen ELISA.

Endelig blev real-time PCR assayet anvendt til test af prøver fra et case-control forsøg udført i efteråret 2014, hvor der på 4 farme blev indsamlet 8-10 fæcesprøver fra mink med diarré og 16-20 fæcesprøver fra mink uden tegn på diarré.

## Resultat

Sensitiviteten af det nye real-time PCR assay blev testet på en 10-folds fortyndingsrække af en antigen ELISA positiv fæcesprøve samt på en 10-folds fortyndingsrække af plasmid.

PCR effektiviteten var 91 % og 100 % for henholdsvis fæcesprøve og plasmid. MEV kunne detekteres i fæcesprøven til fortynding  $10^{-7}$ , det vil sige at virus kunne detekteres efter fortynding af prøven 10 millioner gange. Plasmidet kunne detekteres til fortynding  $10^{-9}$  hvilket svarer til en startkoncentration af plasmid på 64 kopier.

Parallel test af en 10-folds fortyndingsrække af MEV i negativ fæces viste, at real-time PCR kunne detektere MEV til og med fortynding  $10^{-5}$  hvorimod det ikke var

muligt at påvise MEV ved antigen ELISA i nogen af 10-folds fortyndingerne.

Sensitiviteten af antigen ELISA'en blev dernæst testet på en 2-folds fortynding af den MEV positive fæcesprøve i ELISA fortyndingsbuffer. Her var det muligt at detektere MEV til og med fortynding 1:4.

Ud af 5 indsendelser (114 prøver ialt) fra mink uden symptomer på diarré, som tidligere var blevet testet negative i antigen ELISA, blev 20 prøver fra én indsendelse på i alt 56 prøver testet positive for MEV i real-time PCR. Ud af 132 arkivprøver fra mink med diarré, som ikke tidligere har være testet for MEV, blev alle testet negative i real-time PCR. Alle fæcesprøver indsamlet under case-control forsøget i oktober 2014 var negative for MEV ved test med real-time PCR. Fæcesprøverne udtaget under obduktion af mink fra case-control farmene var også negative for MEV med real-time PCR.

Siden 1. marts 2015 har der været 47 indsendelser til DTU Veterinærinstituttet til undersøgelse for MEV hvoraf 5 fik påvist virus med real-time PCR assayet i minimum 1 prøve.

### Diskussion

I nærværende studie beskrives designet og valideringen af et nyt real-time PCR assay til detektion af MEV. Tidligere blev MEV detekteret vha. antigen ELISA.

Real-time PCR er en meget sensitiv metode til detektion af patogener eftersom der under PCR kørslen sker en opformering af patogen-genomet, i dette tilfælde MEV genomet. Denne opformering gør det muligt at detektere meget lave startkoncentrationer af virus-DNA i en enkelt prøve.

Under valideringen af det nye real-time PCR assay viste det sig at være betydeligt mere sensitivt end den tidligere

anvendte antigen ELISA. Ved real-time PCR var det muligt at detektere MEV i en prøve fortyndet 10 millioner gange, hvorimod antigen ELISA'en kun kunne påvise MEV i samme prøve ved en 1:4 fortynding. Sensitiviteten af assayet blev også testet på et plasmid som indeholder DNA sekvensen af PCR amplikonet inkl. primer og probe bindingssteder og her var det muligt at detektere plasmidet ved en startkoncentration på 64 kopier. Det betyder, at man ud fra en standardkurve baseret på en fortyndingsrække af plasmidet, kan kvantitere mængden af virus i en prøve ved hjælp af real-time PCR assayet.

For at undersøge konsekvensen af real-time PCR assayet's forbedrede sensitivitet blev arkivprøver, der tidligere var testet negative i antigen ELISA-testen, diarré prøver fra mink ikke tidligere testet samt nye prøver indsamlet under et case-control forsøg undersøgt for MEV. I alt 331 fæcesprøver blev testet og 20 prøver var positive for MEV i real-time PCR. De 20 prøver var alle fra samme farm og dyrene viste ingen kliniske tegn på diarré.

### Konklusion

På baggrund af de gode resultater med den nye metode, blev rutinetesten ved DTU-Vet erstattet med real-time PCR assayet den 1. marts 2015 for alle MEV indsendelser. Ud af 47 indsendelser pr. 1. oktober 2015, er 5 indsendelser testet positiv for MEV. Det nye MEV real-time PCR assay er en sensitiv og specifik metode til at undersøge for MEV, så den rette diagnose kan stilles og effektiv kontrol kan iværksættes.

### Efterskrift

Undersøgelsen var finansieret af Pelsdyrafgiftsfonden.

### Referencer

Dietz, H.H., Henriksen, P., Clausen, T.N., Chriél, M., 2006. A brief compendium of

the most commonly encountered diseases in mink and foxes in Denmark.

Hoelzer, K., Parrish, C.R., 2010. The emergence of parvoviruses of carnivores. Vet. Res. 41, 39.

Tijssen, P., 1999. Molecular and structural basis of the evolution of parvovirus tropism. Acta Vet. Hung. 47, 379–394.

## Udbrud med *Clostridium septicum* i danske mink

Gitte Larsen, Bettina Nonnemann, Elisabeth Holm, Karl Pedersen & Mariann Chriél

Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Bülowsvej 27, 1780 Frederiksberg C, Danmark

### Sammendrag

For første gang er der påvist udbrud med *Clostridium septicum* bakterien i danske mink. Sidst i juni 2014 blev der påvist *C. septicum* i 18 indsendte hanminkhvalpe fra 6 forskellige jyske minkfarme. Eneste fællesnævner for de 6 minkfarme var, at de havde modtaget foder fra samme fodercentral, men der er ikke undersøgt foder fra den pågældende fodercentral.

Alle 18 minkhvalpe havde hævede hoveder, blodigt flåd fra næse og mund, gasproduktion (bobler) i diverse organer, samt under huden på hele kroppen. Ingen af de indsendte mink havde synlige hudsår eller mave/tarmlæsioner, så indgangsporten antages at have forbindelse med tandskifte, da der blev observeret løse mælketænder og irriteret tandkød med små sår.

**Larsen, G., Nonnemann, B., Holm, E., Pedersen, K. & Chriél, M. 2016.** Udbrud med *Clostridium septicum* i danske mink. Faglig Årsberetning 2015, 105-108, København Forskning Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

### Abstract

For the first time ever an outbreak with *Clostridium septicum* is detected in Danish mink kits. Late in June 2014 *C. septicum* was detected in 18 male mink kits from 6 different farms. All 6 mink farms received feed from the same feed producer but no samples were examined.

Pathologically all 18 mink kits had swollen heads and bloody discharge from the nose and mouth and gas production was seen in various organs and under the skin. None of the 18 mink kits had skin lesions or stomach/intestine ulcers so route of entry was most probably eruption of the permanent teeth and the deciduous teeth inducing irritated gums and small lesions in the mouth.

**Larsen, G., Nonnemann, B., Holm, E., Pedersen, K. & Chriél, M. 2016.** Outbreak of *Clostridium septicum* in Danish mink. Annual Report 2015, 105-108. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** Mink, *Clostridium septicum*, swollen head, death

### Indledning

*Clostridium septicum* er en bakterie, som er almindelig forekommende i tarmkanalen på især planteædere som kvæg og får, og den kan ret let dyrkes fra jord fra marker, hvor får eller kvæg græsser. Den findes også hyppigt i tarmkanalen hos raske mennesker (Songer, 1996), men kan også give anledning til infektioner. Således var bakterien meget udbredt ved sårinfektioner hos soldater i skyttegravene under første verdenskrig, hvor den forårsagede luftudvikling og alvorlig vævshenfald, såkaldt gasgangræn / koldbrand, evt. blodforgiftning (MacLennan, 1962). Hos mennesker kan bakterien også, hos svækkede individer, vokse ind fra tarmen og give anledning til blodforgiftninger (Koransky *et al.* 1979, Stevens *et al.* 1990). Også hos dyr kendes *C. septicum* som årsag til gasgangræn og sårinfektioner. Det kan for eksempel forekomme i forbindelse

med kastration eller indsprøjtninger udført under uhygiejniske forhold, eller sår opstået ved slag, spark eller bid (Songer, 1996). Infektionen kan også udgå fra tarmkanalen. Hos unge får kendes en alvorlig infektion udgående fra løben, "bradsot", hvor løbeslimhinden får alvorlige betændelsesreaktioner, og hvor bakterien formerer sig i løben, hvor den danner nogle vævsbeskadigende giftstoffer, og efterfølgende spreder sig med blodbanerne og giver blodforgiftning og gasudvikling og sluttelig en smertefuld død (Martin & Aitken, 1991, Radostits *et al.* 1994). Infektionen forløber altid dødeligt i mink i løbet af 2 dage (Momborg-Jørgensen, 1952). Det skyldes, at bakterien producerer giftstoffer, som kan forårsage væbsdød uden der er en forudgående skade, samt at bakterien producerer store mængder gas (bobler).

For at *C. septicum* kan komme over i blodcirkulationen kræver det en indgangsport i dyret, f.eks et hudsår eller en mave/tarm læsion. *C. septicum* kan under normale forhold hos dyr med intakt slimhinde/hud barriere ikke slippe over i blodcirkulationen og forårsage sygdom og død.

Det unikke ved alle levende clostridie bakterier er, at de er i stand til at producere sporer. Sporer er en særlig modstandsdygtig udgave af clostridiebakterien og en måde clostridiebakterierne overlever på. Kogning af foder ved 100 grader i 20 min. dræber clostridiebakterierne, men clostridiesporerne kan overleve temperaturer op til 120 grader. Når der så senere kommer gunstige forhold for sporerne, kan bakteriesporerne vokse frem til nye funktionsdygtige clostridiebakterier, og således kan foderet igen blive kontamineret.

### Materialer og metoder

Ultimo juni 2014 blev DTU Veterinærinstituttet telefonisk kontaktet af flere praktiserende dyrlæger. På flere jyske minkfarme noterede avlerne pludselig mange akutte dødsfald, især blandt store hanhvalpe. Alle minkhvalpene havde hævede hoveder (figur 1) samt blod omkring snuden og i munden. I løbet af 2 dage modtog DTU Veterinærinstituttet i alt 18 hanminkhvalpe til obduktion fra 6 forskellige jyske minkfarme. Det eneste, der var fælles for alle 6 farme var, at de modtog foder fra den samme fodercentral.

Der blev foretaget standard obduktion med beskrivelse af sygdomsfund på de 18 indsendte mink og udtaget organmateriale til bakteriologisk aerob og anaerob dyrkning og histologisk undersøgelse (kun 1 indsendelse). Undersøgelse af blod for antistoffer mod plasmacytose blev foretaget med en modificeret protokol af modstrøms-

elektroforese (CIEP) først beskrevet Cho & Ingram (1972).

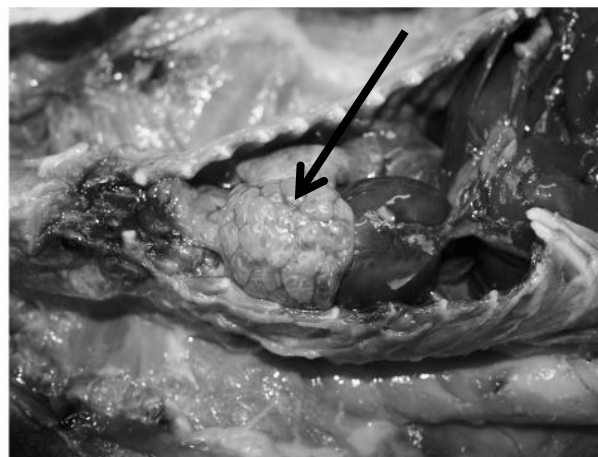


Figur 1- Mink hvalp med hævet hoved

### Resultat

#### *Patoanatomiske fund:*

På alle de undersøgte mink sås store hævede hoveder (figur 1), blodigt indhold i næsen og i mundhulen, samt krepiterende hudlag over hele kroppen. Ved indsnit i huden på kroppen var der blodig underhud og ansamlinger af gasbobler i underhuden. I alle organerne var der ligeledes ansamlinger af små gasbobler (figur 2).



Figur 2: Gasproduktion (bobler) i lungen.

#### *Bakteriologiske fund:*

Den aerobe dyrkning var steril på alle 18 mink. Ved den anaerobe dyrkning fandtes *C. septicum* i renkultur på alle 18 minkhvalpes organprøver. Bakterieidentifikationen blev foretaget ved MALDI-TOF.

#### *Histologiske fund:*

Den histologiske undersøgelse viste massiv forekomst af stavbakterier i alle de undersøgte organer som tegn på blodforgiftning med bakterierne, samt forekomst af gasbobler i organerne.

#### *Blodprøveundersøgelse.*

Alle blodprøver fra de 18 mink var negative for plasmacytose antistoffer.

#### **Diskussion/konklusion**

Der er aldrig tidligere dokumenteret et udbrud med *Clostridium septicum* bakterien i danske farmmink, men dog beskrevet i ældre litteratur som en sygdom med "ringe praktisk betydning" (Momberg-Jørgensen, 1952). Som nævnt i indledningen er infektion med *C. septicum* bakterien velkendt og bekræftet hos mange andre dyrearter. Ifølge litteraturen kræver bakterien en indgangsport, men i de 18 undersøgte mink fandtes ingen tegn på hverken hudsår eller mave/tarmlæsioner.

Udbruddet blev set i den periode, hvor hvalpene var ved at skifte tænder (Aulerich, R.J. & Swindler, 1968), og de havde løse tænder og blottet tandkød med små sår. Det antages derfor, at det er mundhulen, der har været indgangsporten og dermed årsag til blodforgiftning og akutte dødsfald. Det faktum, at det netop var store hanhvalpe som døde, skyldes sandsynligvis, at de æder en større mængde foder end tæver i samme aldergruppe.

Foderet fra fodercentralen blev ikke undersøgt i forbindelse med optræden af disse tilfælde, så smitekilden er ikke

dokumenteret. Imidlertid er det en kendsgerning, at alle 6 farme modtog foder fra samme fodercentral. Ydermere var der rapporter om flere farme, som også modtog foder fra samme fodercentral, der havde noteret sig de samme symptomer, men som ikke fik sendt mink ind til diagnostisk undersøgelse, da de akutte dødsfald blandt minkhvalpene stoppede efter 2 døgn – ganske som beskrevet i Momberg-Jørgensen (1952).

#### **Efterskrift**

Vi vil gerne rette en stor tak til dygtige praktiserende dyrlæger og minkavlere, der sikrer indsendelse af mink til diagnostisk undersøgelse.

#### **Referencer**

Aulerich, R.J. & Swindler, D.R. (1968) , The dentition of the mink (*Mustela Vison*). 49, 3, 488-494, 20. august 1968. DOI: <http://dx.doi.org.proxy.findit.dtu.dk/10.2307/1378207> .

Cho, H. J., & Ingram, D. G. (1972). Antigen and antibody in Aleutian disease in mink. I. Precipitation reaction by agar-gel electrophoresis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 108(2), 555–557.

Koransky, J.R., Stargel, M.D. & Dowell, V.R., 1979. *Clostridium septicum* bacteremia—its clinical significance. *Am. J. Med.* 66, 63-66.

MacLennan, J.D., 1962. Histotoxic clostridial infections of man. *Bacteriol. Rev.* 26, 176-276.

Martin, W.B. & Aitken, I.D. 1991. Diseases of sheep. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications. p. 109-13.

Momberg-Jørgensen, H.C. 1952. Pelsdyrsygdomme. Carl F. Mortensen, p95

Radostits, O.M., Blood, D.C. & Gay, C.C. 1994. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 8<sup>th</sup> ed. London: Bailliere Tindall, p. 686-689.

Songer, J.G., 1996. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin. Microbiol. Rev. 9, 216–234.

Stevens, D.L., Musher, D.M., Watson, D.A., Eddy, H., Hamill, R.J., Gyorkey, F., Rosen, H. & Mader, J. 1990. Spontaneous, nontraumatic gangrene due to *Clostridium septicum*. Rev. Infect. Dis. 12, 286-296.

## Subtypning af influenza på danske minkfarme i 2014

Charlotte K. Hjulsager, Jesper S. Krog, Mariann Chriél, Gitte Larsen & Lars E. Larsen  
DTU Veterinærinstituttet, Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C.

### Sammendrag

I efteråret 2014 blev influenza A virus påvist i 30 indsendelser af mink fra danske farme. I de fleste tilfælde kunne virus subtypes til at være "pandemisk" influenza A virus H1N1 (H1N1pdm09), dvs. den subtype, der har cirkuleret i danske grise siden starten af 2010, og som også cirkulerer i mennesker bl.a. under influenzasæsonen 2014/2015. I to tilfælde blev virus subtypet til almindelige svineinflenzavirus H1N1 og H1N2, som aldrig har været påvist i mennesker i Danmark. Det tyder dermed på, at minkene blev smittet med virus fra danske grise. Syvogtyve af de positive farme benyttede den samme fodercentral, hvilket sandsynliggør at smitte kan være foderbåren. Subtypen tyder på, at kilden kan være biprodukter fra slagtesvin, der ikke har været tilstrækkeligt varmebehandlet, i foderet. En anden mulighed kan være smitte direkte af influenza-syge mennesker, fx syge personale eller gæster på farmene. Hverken smitte fra foder eller mennesker er dokumenteret.

**Hjulsager C.K., Krog J.S., Chriél M., Larsen G. & Larsen L.E. 2016.** Udbrud af influenza på danske minkfarme i 2014. Faglig Årsberetning 2015, 109-113. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

### Abstract

In the autumn 2014, influenza A virus was detected in 30 submissions of mink from Danish mink farms. In most cases, the virus was subtyped as "pandemic" influenza A virus H1N1 (H1N1pdm09), which has been circulating in Danish pigs since primo 2010, and were also circulating in the human population during the influenza season 2014/2015. In two cases, viruses were the normal Danish swine influenza viruses H1N1 and H1N2. Such viruses have never been detected in humans in Denmark, therefore pigs are the most likely origin of the viruses. Twenty-seven of the positive farms received feed from the same feed producer, thus viruses could have been transferred by the feed, the source being byproducts of untreated swine offal in the feed. Another possibility is that the minks were infected directly by human contact, e.g. by staff or guests infected with influenza when visiting the farms. Neither feed nor human contact as a source of the outbreak has been demonstrated.

**Hjulsager C.K., Krog J.S., Chriél M., Larsen G. & Larsen L.E. 2016.** Subtyping of influenza in Danish mink farms in 2014. Annual Report 2015, 109-113. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Influenza A virus, H1N1pdm09, Danish mink

### Indledning/Baggrund

I efteråret 2014 var der en stigning i antallet af indsendelser af farmede mink (*Neovison vison*) til diagnostisk undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet. Symptomerne var i mange tilfælde nysen, hoste, blod fra næsen og øget dødelighed, med obduktionsfund forenelige med hæmorrhagisk lungebetændelse. Hæmolytiske *Escherichia coli* eller *Pseudomonas aeruginosa* blev fundet i renkultur i lunger og lever. Behandling med antibiotika gav kun en kortvarig effekt, hvorefter symptomerne returnerede. Dyrene var typisk velnærede. Influenza A virus blev påvist i 30 ud af de 42 diagnostiske indsendelser, der blev undersøgt for influenza i

perioden fra august til november 2014. Alle de influenzaviruspositive indsendelser var fra perioden 30. september til 26. november.

Influenza A virus er en almindelig årsag til luftvejslidelser i mange dyrearter, herunder mennesker, svin og fugle. Influenza A virus er også i sjældnere tilfælde påvist i mink (Berg *et al.* 1990, Larsen *et al.* 2012). Influenza A virus klassificeres i subtyper på basis af virus overfladeproteinerne hæmagglutinin (HA) og neuraminidase (NA). Fra fugle kender man 16 forskellige varianter af HA og 9 forskellige varianter af NA, der adskiller sig genetisk og antigenet. De subtyper, der primært findes hos mennesker og svin, er



H1N1, H1N2 og H3N2. Indenfor subtyperne er der stor diversitet og i 2009 skete en global spredning af en ny variant af H1N1 i den humane population (Trifonov *et al.* 2009). Dette virus kaldes H1N1pdm09 og blev efterfølgende årsag til sæsoninfluenza i mennesker, herunder i Danmark, hvor det har været den dominerende subtype i flere sæsoner (SSI 2015). Allerede i 2009 blev dette virus også påvist i svin med tegn på smitte fra mennesker til svin (Howden *et al.* 2009), og er nu en af de mest udbredte subtyper i svin i Europa - inklusiv i Danmark (Watson *et al.* 2015).

For at belyse oprindelsen af influenza-virus på de smittede minkfarme, blev subtypen bestemt.

## Materiale og metoder

### Dyr/prøver

Mink (*Neovison vison*) indsendt til DTU Veterinærinstituttet i perioden 15. august til 26. november 2014 blev undersøgt for influenza A virus ved test af lungevæv. Det var ikke alle indsendelser af mink med symptomer forenelige med influenza der blev undersøgt for influenza A virus, da ikke alle indsendere ønskede at få undersøgelsen udført.

### Undersøgelse for influenza og subtypning

Undersøgelse for influenza A virus blev udført ved hjælp af real-time RT-PCR på lungevæv med et assay der kan påvise alle kendte subtyper. Alle influenza A virus positive prøver blev efterfølgende testet for H1pdm09 subtypen med real-time RT-PCR rettet mod HA genet. Øvrig subtypebestemmelse og verificering af H1N1pdm09 subtypning på udvalgte prøver blev udført ved sekventering af HA og NA generne.

## Resultater

Der blev påvist influenza A virus i 30 indsendelser fra forskellige farme (figur 1), der fik foder fra 4 forskellige fodercentraler.

Subtypen blev bestemt som H1N1pdm09 i 22 indsendelser og almindelig svine H1N1 eller H1N2 i hhv. en og to indsendelser. Fem indsendelser blev ikke subtypet.

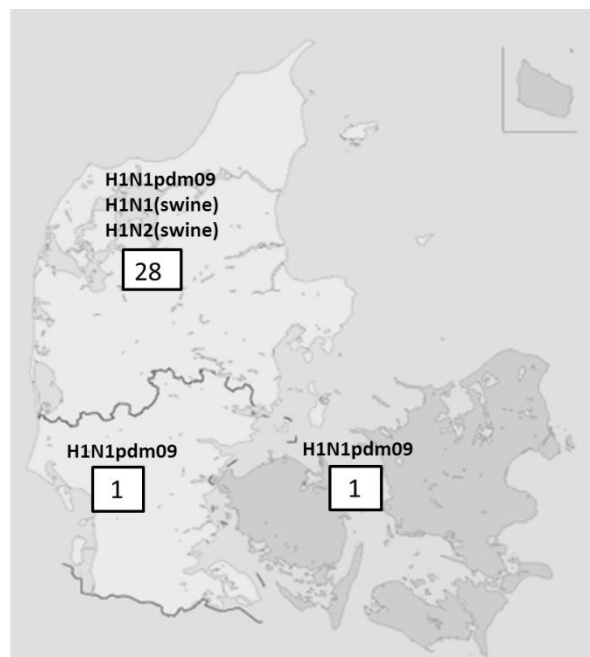


Fig. 1. Geografisk fordeling af fund af influenza A virus i indsendelser fra minkfarme i Danmark i perioden fra august til november 2014.

Syvogtyve af de influenza A virus positive farme havde fået leveret foder fra samme fodercentral, heriblandt havde tre farme almindelig svineinfluenza H1N1 eller H1N2 (tabel 1). Resten var subtypet som H1N1pdm09 (n=20) eller ikke subtypet (n=4). De sidste 3 positive farme havde fået foder fra hver sin fodercentral, to af disse fik påvist H1N1pdm09, mens den tredje ikke blev subtypet.

## Diskussion

I forbindelse med udbrud af alvorlig lungebetændelse i farmede mink i efteråret 2014 blev der påvist influenza A virus i lungerne fra mink fra 27 minkfarme, der benyttede samme fodercentral. De fleste indsendelser blev subtypet til H1N1pdm09 virus, der cirkulerede i både svin og mennesker i Danmark i samme periode, mens tre blev subtypet som almindelig svineinfluenza, der forekommer i danske svin året rundt.

Tre farme, der benyttede hver sin (anden) fodercentral, fik ligeledes påvist influenza A virus, og to af disse fik subtypet virus som H1N1pdm09. Der synes dermed at være en sammenhæng mellem den anvendte fodercentral og udbrud af influenzavirus på farmen, men andre smitteveje kan ikke udelukkes.

Tabel 1. Fordeling af influenza A virus positive farme på fodercentral.

Fodercentral	Antal influenza A virus positive farme	Influenza subtyper påvist på de positive farme
<b>A</b>	20	H1N1pdm09
	2	Svine H1N1
	1	Svine H1N2
	4	Ikke subtypet
<b>B</b>	1	H1N1pdm09
<b>C</b>	1	H1N1pdm09
<b>D</b>	1	Ikke subtypet

Fund af influenza A virus i mink er beskrevet i flere tilfælde, både med virus af aviær, human og svine-oprindelse (Berg *et al.* 1990, Åkerstedt *et al.* 2012). I danske mink blev der fundet influenza med subtypen H3N2 med gener af både svine og humanoprindelse i forbindelse med et større udbrud af alvorlig lungebetændelse i farmede mink i 2009 (Larsen *et al.* 2012). Influenza A virus med subtypen H1N1pdm09 er også fundet mere sporadisk de senere år i danske mink indsendt til undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet. I flere tilfælde blev der observeret et sammenfald mellem udbrud af influenza A virus af svineoprindelse og anvendelse af ikke tilstrækkelig varmebehandlet svineaffald, og foderet blev mistænkt for at være kilde til smitten.

De fleste tilfælde af Influenza A virus i mink, der blev påvist i 2014-udbruddet, var af H1N1pdm09 subtypen, og sådanne virus har cirkuleret i danske grise siden starten af 2010 (Simon *et al.* 2015) og i mennesker siden 2009. Indenfor den humane verden, betegnes dette virus ikke længere som et pandemisk virus, men som en sæsoninfluenzavirus. Både mennesker og/eller grise kan derfor betragtes som mulig smitekilde til mink.

De almindelige svineinfluenzavirus H1N1 og H1N2, der blev fundet i tre tilfælde i mink, findes også udbredt i danske grise, men ikke i mennesker. Derfor peger disse fund på grise som smitekilde, og en mulig smitterute kan være foderet, hvis der er anvendt svineaffald i foderet, der ikke var tilstrækkeligt varmebehandlet. Der er imidlertid ikke testet foderprøver, så denne smitekilde er ikke dokumenteret direkte.

En anden mulighed kunne være at minkene blev smittet direkte af mennesker ved aerosol kontakt, hvis smittede mennesker besøgte minkfarmene, en teori der understøttes af at H1N1pdm09 virus er kendt som årsag til humane tilfælde af influenza, bl.a. under influenzasæsonen 2014/2015 (SSI 2015). Denne smitterute kunne især være en sandsynlig årsag til de 3 sporadiske fund af virus på farme, der brugte andre fodercentraler.

Foderbåren smitte med oprindelse i svin kan dog heller ikke udelukkes i de sporadiske tilfælde, selvom man forvente mange smittede farme, der brugte samme fodercentral. Men der testes ikke rutinemæssigt for influenzavirus på alle farme med symptomer på influenza, så der kan have været langt flere tilfælde af influenza end de der blev påvist på DTU Veterinærinstituttet.

De seneste 5-6 år er der i flere tilfælde fundet svineinfluenza i mink på danske

minkfarme med kompliceret og dødelig lungebetændelse. I nogle tilfælde har det været influenza A virus H1N1pdm09 der også kan smitte mennesker. Influenza-virus hos mink er ikke særlig godt beskrevet og der findes ingen undersøgelser af udbredelsen blandt danske mink, da det ikke er sikkert, at det i alle tilfælde giver anledning til alvorlig sygdom. Undersøgelse for influenzavirus efterspørges ikke hyppigt af indsendere, så der iværksættes kun diagnostisk undersøgelse såfremt der opstår mistanke om influenza ved obduktionen eller der er tale om alvorlige udbrud. Det er derfor sandsynligt, at omfanget af influenzatilfælde er underrapporteret. For at kunne iværksætte foranstaltninger der begrænser forekomsten af influenza hos mink, er det nødvendigt at kende udbredelsen blandt farmede mink i Danmark. I 2016 vil DTU Veterinær-instituttet foretage en undersøgelse af forekomsten af influenza i mink, der indsendes til undersøgelse i perioden fra sommer til pelsning.

### Konklusion

I 2014 var der udbrud af influenza på danske minkfarme. Der blev fundet virus med tre forskellige subtyper, som alle ligner dem der blev fundet i danske grise i samme periode. Grisene kan således være smittekilde. Der var sammenfald mellem størstedelen af de påviste udbrud af influenza og anvendelse af foder fra samme fodercentral, hvilket sandsynliggør en foderrelateret smitte via foder der indeholdt ubehandlet svineaffald. Smitte direkte fra mennesker kan imidlertid ikke udelukkes, men synes mindre sandsynlig. Smitte med influenza til mink fra grise via minkfoderet eller direkte fra mennesker er ikke dokumenteret.

### Efterskrift

Vi vil gerne rette en stor tak til dygtige praktiserende dyrlæger og minkavlere, der sikrer indsendelse af mink til diagnostisk undersøgelse.

### Referencer

- Berg M, Englund L, Abusugra IA, Klingeborn B, Linné T. 1990. Close relationship between mink influenza (H10N4) and concomitantly circulating avian influenza viruses. Arch. Virol., 113:61-71.
- Simon G., Larsen L.E., Dürrwald R., Foni E., Harder T., Van Reeth K., Markowska-Daniel I., Reid S.M., Dan A., Maldonado J., Huovilainen A., Billinis C., Davidson I., Agüero M., Vila T., Hervé S., Breum S.Ø., Chiapponi C., Urbaniak K., Kyriakis C.S., ESNIP3 consortium, Brown I.H. & Loeffen W. 2014. European surveillance network for influenza in pigs: surveillance 1 programs, diagnostic tools and swine influenza virus subtypes 2 identified in 14 European countries from 2010 to 2013. PLoS One, 9:e115815.
- Larsen L.E., Breum S.Ø., Bradstad K, Nielsen L.P., Chriél M. Jensen T.H., Hjulsager C.K., Handberg K.J., Jørgensen P.H., Harslund J.F., Rangstrup-Christensen L., Pedersen B. & Hammer A.S. 2012. Outbreaks of Influenza A Virus in Farmed Mink (*Neovison vison*) in Denmark: Molecular characterization of the involved viruses. Abstract, 10th International Scientific Congress in fur animal production (IFASA 2012), Copenhagen, Denmark.
- Howden K.J., Brockhoff E.J., Caya F.D., McLeod L.J., Lavoie M., Ing J.D., Bystrom J.M., Alexandersen S., Pasick J.M., Berhane Y., Morrison M.E, Keenlside J.M., Laurendeau S. & Rohonczy E.B. 2009. An investigation into human pandemic influenza virus (H1N1) 2009 on an Alberta swine farm. Can Vet J 50:1153–1161.

SSI 2015. Influenza-Nyt uge 17 - 2015. ssi.dk.

Trifonov V., Khiabani H. & Rabadan R. 2009. Geographic dependence, surveillance, and origins of the 2009 Influenza A (H1N1) virus. *New England J Medicine* 361:115-119.

Watson S.J., Langat P., Reid S.M., Lam T.T-Y., Cotten M., Kelly M., Van Reeth K., Qiu Y., Simon G., Bonin E., Foni E., Chiapponi C., Larsen L., Hjulsager C., Markowska-Daniel I., Urbaniak K., Dürrwald R., Schlegel H., Huovilainen A., Davidson I., Dán Á., Loeffen W., Edwards S., Bublot M., Vila T., Maldonado J., Valls

L., ESNIP3 Consortium, Brown I.H., Pybus O.G. & Kellam P. 2015. Molecular Epidemiology and Evolution of Influenza Viruses Circulating within European Swine between 2009 and 2013. *J. Virol.* 89:9920-9931.

Åkerstedt J, Valheim M, Germundsson A, Moldal T, Lie K-I, Falk M, Hungnes O. 2012. Pneumonia caused by influenza A H1N1 2009 virus in farmed American mink (*Neovison vison*). *Veterinary Record*, 170:362b.



# Lammelser af bagparten hos mink forårsaget af knoglemarvsbetændelse i ryghvirvlerne

Gitte Larsen<sup>1</sup>, Bettina Nonnemann<sup>1</sup>, Lene Buelund<sup>2</sup>, Elisabeth Holm<sup>1</sup>, Tim Kåre Jensen<sup>1</sup> & Mariann Chriél<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet (DTU), Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C, Danmark

<sup>2</sup> Universitetshospitalet for familiedyr, afdeling for Billedagnostik på Københavns Universitet, Bülowsvej 13, 1870 Frederiksberg C, Danmark

## Sammendrag

I 2014 blev der for første gang påvist bakteriel knoglemarvsbetændelse i ryghvirvlerne som årsag til lammelse hos danske farmede mink. Ved obduktionen kunne man mærke en fast hævelse på rygsøjlen i brysthulen på 6 ud af 11 undersøgte mink. Røntgenundersøgelse og histopatologi viste varierende grad af knoglemarvsbetændelse (diskospondylitis og osteomyelitis) i 8 af de 11 mink. Knoglemarvsbetændelsen i ryghvirvlerne resulterede i en forsnævring af rygmarvskanalen med tryk på rygmarven og dermed at minkene blev lamme. Den bakteriologiske undersøgelse viste forekomst af enten *Streptococcus* spp. eller *Staphylococcus* spp. i de angrebne ryghvirvler, samt i leveren. De fleste af minkene havde sår på halespidsen som evt. kan have været indgangsporten til den bakterielle knoglemarvsbetændelse i ryghvirvlerne.

**Larsen, G., Nonnemann, B., Buelund, L., Holm, E., Jensen, T.K. & Chriél, M. 2016.** Lammelser af bagparten hos mink forårsaget af knoglemarvsbetændelse i ryghvirvlerne. Faglig Årsberetning 2015, 115-117, København Forskning Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

For the first time diskospondylitis and osteomyelitis has been detected as cause of paresis/paralysis in Danish farmed juvenile mink. Pathology showed palpable swelling of the spine in the thoracic region in 6 of 11 examined mink. X-ray examination and histopathology showed chronic diskospondylitis/osteomyelitis in 8 of 11 mink. The paresis/paralysis was caused by compression of the spinal cord due to the inflammatory reaction. Bacteriology from the involved vertebral bone and liver showed *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus* spp. Most of the mink had tail bites and this may serve as the route of infection followed by hematogenic spread to the disks.

**Larsen, G., Nonnemann, B., Buelund, L., Holm, E., Jensen, T.K. & Chriél, M. 2016.** Paralysis in mink due to diskospondylitis. Annual Report 2015, 115-117. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Mink, paralysis, diskospondylitis

## Indledning

Lammelser hos mink er velkendt og kan have flere årsagsforhold som f.eks. botulisme (Momborg-Jørgensen, 1952), muskeldegeneration (Dietz *et al.*, 2006), toxoplasmose (harsyge) (Jones *et al.*, 2006), overførbart hjernebetændelse (TME) (Marsch & Hadlow, 1992) og traumatiske årsager.

I både USA og Canada har der længe været kendt en anden årsag til lammelse i mink, nemlig en bakteriel knoglemarvsbetændelse i ryghvirvler (diskospondylitis/osteomyelitis) (Olson *et al.*, 2005; Martinez *et al.*, 2013). Lidelsen har

aldrig tidligere været diagnosticeret i danske mink.

## Materialer og metoder

DTU Veterinærinstituttet blev kontaktet af en praktiserende dyrlæge, der var tilkaldt til en farm med en usædvanlig høj forekomst af lammelser hos mink. Lammelserne var kun observeret i bagparten af minkene. Den praktiserende dyrlæge indsender i alt 11 selvdøde mink til DTU Veterinærinstituttet alle med lammelse i bagparten som eneste kliniske symptom fra den pågældende minkfarm. Der er mistanke om botulisme på grund

af problemets omfang og den akutte optræden i farmen.

På alle 11 mink blev der foretaget standard obduktion. Undersøgelse af blod for antistoffer mod plasmacytose blev foretaget med en modificeret protokol af modstrømselektroforese (CIEP) først beskrevet af Cho & Ingram (1972). Som en supplerende undersøgelse blev minkene undersøgt røntgenologisk.

Der blev undersøgt for botulinum toksin ved podning af levervæv (poolet) fra fem mink på levende mus. De øvrige 6 mink blev efterfølgende undersøgt ved generel bakteriologi og histologi.

## Resultater

### *Undersøgelse for botulinum toxin:*

Den poolede leverprøve fra de fem mink var negativ for botulinum toxin.

### *Obduktionsfund:*

Ved obduktion af minkene blev der observeret en lokal fortykkelse og hævelse af rygsøjlen, omfattende en eller to ryghvirvler – på de fleste mink midt i brysthulen (figur 1). Dette gav mistanke om en lidelse i rygsøjlen som årsag til lammelsen, hvorfor de efterfølgende blev undersøgt ved røntgen. I enkelte tilfælde var fortykkelsen ikke umiddelbar synlig, men ved grundig undersøgelse med fingerspidserne ned ad rygsøjlen kunne fortykkelsen erkendes. Der blev endvidere observeret sår på halespidsen på de fleste af minkene. Ingen af de 11 undersøgte mink havde tegn på urinsvejssten eller traumer.

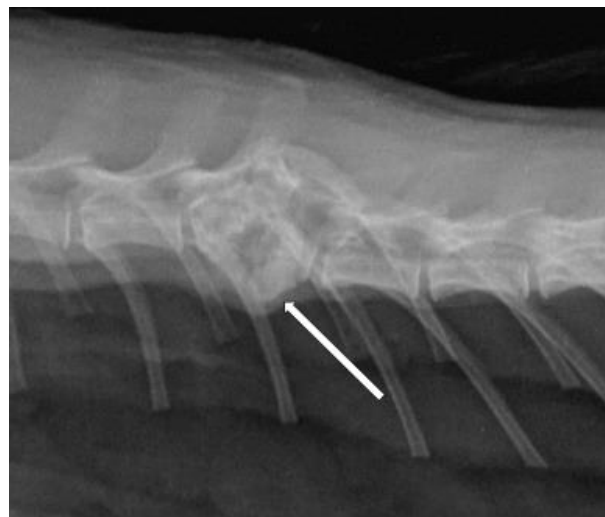
### *Røntgen undersøgelse:*

Røntgenundersøgelsen, der blev foretaget i to planer - dorsoventral og laterolateral projektion - på alle 11 mink viste, at 8 af minkene havde betændelseslignende forandringer i knoglemarven og disken (disko-osteomyelitis) i en eller flere ryghvirvler i brystregionen (figur 2).

Betændelsestilstanden forårsagede en forsnævring af rygmarvskanalen og dermed sammentrykning af rygmarven, således at minkene blev lamme.



Figur 1: Tydelig lokal fortykkelse af rygsøjlen forrest i brysthulen (ved spidsen af hvid pil).



Figur 2: Mink med knoglemarvsbetændelse i en ryghvirvel. Forsnævring af rygmarvskanalen og tryk på rygmarven medfører lammelse af minken.

### *Histologi:*

De røntgenologiske fund blev bekræftet histologisk ved påvisning af knoglemarvsbetændelse af varierende grader med henfald af knoglevæv og ledbrusk i 5 ud

af 6 undersøgte dyr. Flere af knoglemarvslæsionerne havde opbrud med spredning til omgivende væv og med tegn på bakteriel infektion.

#### *Bakteriologi:*

Mistanken om bakteriel infektion blev bekræftet idet der blev påvist *Streptococcus* spp. og *Staphylococcus* spp. i læsionerne, samt i leveren på de samme dyr.

#### **Diskussion/Konklusion**

Det er første gang at bakteriel knoglemarvsbetændelse i ryggen er påvist som årsag til lammelse i danske farmede mink. Både symptomer og læsionerne med forsnævring af rygmarvs-kanalen og deraf følgende kompression af rygmarven ligner de tidligere beskrevne tilfælde fra Nordamerika. Ved almindelig diagnostisk åbning af døde mink på farme kan det være vanskeligt at se og mærke knoglemarvsbetændelserne idet forandringerne i ryghvirvlerne er af en meget beskeden størrelse.

Bakteriel knoglemarvsbetændelse i rygsøjlen er en vigtig differentialdiagnose til botulisme og urinsvejssten og bør altid overvejes ved lammelse af bagparten af mink i aldersgruppen 7 til 24 uger.

Lidelsen opstår sandsynligvis efter en blodforgiftning med almindeligt forekommende bakterier fra minkens nærmiljø. Indgangsporten kan f.eks. være hud/halesår, vaccination med beskidt eller slidt kanyler eller ved tandskifte gennem mundhulesår osv.

#### **Efterskrift**

Vi vil gerne rette en stor tak til dygtige praktiserende dyrlæger og minkavlere, der sikrer indsendelse af mink til diagnostisk undersøgelse.

#### **Referencer**

- Cho, H. J., & Ingram, D. G. 1972. Antigen and antibody in Aleutian disease in mink. I. Precipitation reaction by agar-gel electrophoresis. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1972), 108(2), 555–557.
- Dietz, H.H., Henriksen, P., Clausen, T.N., Chriél, M., 2006. A brief compendium of the most commonly encountered diseases in mink and foxes in Denmark.
- Jones YL1, Fitzgerald SD, Sikarske JG, Murphy A, Grosjean N, Kiupel M. 2006. Toxoplasmosis in a free-ranging mink. *J Wildl Dis.* 2006 Oct;42(4):865-9.
- Marsh RF, Hadlow WJ. 1992. Transmissible mink encephalopathy. *Revue Scientifique et Technique* (International Office of Epizootics) 1992, 11(2):539-550.
- Martinez J, Vidaria B, Cruz-Arambula R, Slavic D, Tapscott and Brash ML. Bacterial diskospondylitis in juvenile mink from 2 Ontario mink farms. *Can. Vet. J* 2013. Sep; 54(9): 859-863.
- Momberg-Jørgensen, H.C. 1952. Pelsdyrsygdomme. Carl F. Mortensen, p77-78
- Olson EJ, Parker JB and Carlson CS. 2005. Bacterial diskospondylitis associated with posterior paresis/paralysis in North American farmed mink (*Mustela vison*) *Vet. Pathol.* 2005; 42:125-131





## Metabolomics som værktøj til at identificere markører for sårhelingsprocessen hos mink

Mette Skou Hedemann<sup>1</sup>, Anna Jespersen<sup>2</sup> & Anne Sofie Vedsted Hammer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut for Husdyrvidenskab, Aarhus Universitet, Blichers Alle 20, Postboks 50, 8830 Tjele

<sup>2</sup>Institut for Veterinær Sygdomsbiologi, Københavns Universitet, Grønnegårdsvej 15, 1870 Frederiksberg C

### Sammendrag

Formålet med denne undersøgelse var at benytte metabolomics som værktøj til at finde markører for sårhelingsprocessen hos mink. Prøverne, som blev analyseret i denne undersøgelse, stammer fra tre forsøg med eksperimentelle sår hos mink (a. Pilotforsøg, b. Proteinforsøg, c. Test af sårbehandlingsprodukter i en eksperimentel sårmodel), som er blevet gennemført ved Københavns Universitet. Resultaterne fra pilot- og proteinforsøget, hvor alle dyr fik lavet sår, viste, at brugen af bedøvelse, da såret blev lavet, havde så stor betydning på sammensætningen af metabolitter i blodet, at det ikke var muligt at se en effekt af såret. I forsøget med sårbehandlingsprodukter indgik dyr både uden og med sår, og her var det muligt at se en forskel mellem dyrene 14 dage efter såret var blevet lavet. Der blev lavet en foreløbig identifikation af de mulige markører for sårhelingsprocessen, og tre af metabolitterne, 3-metylsalisylsyre, thromboxan B2 og prostaglandin, er direkte relateret til sårhelingsprocessen.

**Hedemann, M.S., Jespersen, A. & Hammer, A.S. 2016.** Metabolomics som værktøj til at identificere markører for sårhelingsprocessen hos mink. Faglig årsberetning 2015, 119-125. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

### Abstract

The purpose of this investigation was to use metabolomics as a tool to find markers for the wound healing process in mink. The samples analyzed in this study were obtained from three experimental wound model studies in mink (a. Pilot experiment, b. Protein content in the feed, c. Test of topical treatment in an experimental wound model) performed at University of Copenhagen. The results of the pilot and the protein experiment, where all animals had an experimental wound, showed that the use of anesthetics, when the wounds were made, had a major, long-lasting influence on the metabolite pattern in blood, which made it impossible to see an effect of the wound. In the experiment with topical treatment of wounds, a control group without wound was included. In this experiment it was possible to detect a difference between animals without and with a wound 14 days after the wound had been made. A preliminary identification of markers for the wound healing process showed that the metabolites, 3-Cresotinic acid, thromboxane B2 and prostaglandin were involved and these are all directly related to the wound healing process.

**Hedemann, M.S., Jespersen, A. & Hammer, A.S. 2016.** Metabolomics as a tool for identification of markers for the wound healing process in mink. Annual Report 2015, 119-125. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** metabolomics, wounds, welfare, mink, *Neovison vison*

### Indledning

Der er stor interesse for minks velfærd, og forekomst af sår anses for at være en indikator for dårlig velfærd i minkproduktionen, da de potentielt kan være smertefulde for dyret og antyder u hensigtsmæssige sociale relationer. Dødsfald pga. sår er en sjælden diagnose (Rattenborg *et al.*, 1999), men i perioden fra juli til pelsning er bidsår/kannibalisme dog en af de væsentligste dødsårsager (Clausen, 2006). Undersøgelser af lædersiden af skindet efter pelsning indikerer desuden, at bid er hyppigt

forekommende især hos gruppeindhusede mink (Hansen, 2012).

Viden om sårhelingsprocessen hos mink er meget begrænset (Hammer & Jensen, 2012), men hos andre dyrearter og hos mennesker er der foretaget omfattende studier af sår og heling. Sårheling er en uhyre kompleks proces, som involverer mange celletyper såvel som vækstfaktorer, cytokiner og andre komponenter i vævet. En af de vigtigste celletyper, som er involveret i processen er makrofager (Delavary *et al.*, 2011).

Makrofager er immunceller, som har flere funktioner bl.a. fagocytose, hvor cellen "spiser" store partikler f.eks. bakterier, og præsentation af antigener. Desuden producerer makro-fagerne mange stoffer, som stimulerer sårhelingen. Arginin er et vigtigt substrat for flere processer i makrofagerne, og det er vist at tilskud af arginin kan have positiv effekt på sårhelingsprocessen hos diabetiske rotter (Raynaud-Simon *et al.*, 2012), men kendskabet til arginins om-sætning i forbindelse med sårhelings-processen er begrænset (Debats *et al.*, 2009). Hvilke stoffer der har betydning for sårhelingen hos mink er ikke belyst.

I dette studie ønskede vi at undersøge blodprøver fra mink med eksperimentelle sår med væskechromatografi massespektro-metribaseret metabolomics for at under-søge, om vi kunne identificere potentielle markører for sårhelingsprocessen hos mink. Samtidig ønskede vi at undersøge metabolitter i argininomsætningen med henblik på at klarlægge, om arginin er vigtig for sårhelingsprocessen hos mink.

## Materialer og metoder

### Dyr

Prøverne, som blev analyseret i dette studie, er udtaget i forbindelse med et Ph.d. projekt vedrørende sår hos mink. De eksperimentelle undersøgelser blev gennemført på Københavns Universitets forsøgsfarm Rørrendegård.

Der blev anvendt prøver fra tre eksperimentelle studier:

#### a) Pilotstudie:

10 silverblue mink fik taget en blodprøve på dag 0, hvorefter der under bedøvelse blev lavet et eksperimentelt sår. På dag 3 blev dyrene bedøvet, fik taget blodprøve ved indstik i hjertet og blev efterfølgende aflivet.

#### b) Proteinforsøg:

30 brune mink blev inddelt i 3 grupper á 10 mink som fik henholdsvis 20, 22 eller 25 % af den omsættelige energi fra protein ( $OE_p$ ). På dag 0 blev der inden bedøvelse og operation udtaget en blodprøve fra hver mink. Prøven blev udtaget fra et forben efter fiksering af minken i fælde. Minkene blev aflivet efter henholdsvis 1, 3, 7, 14, 30 og 60 dage. Ved aflivning blev der ligeledes udtaget blod fra hver mink, ved indstik i hjertet efter forudgående bedøvelse.

#### c) Test af sårbehandlingsprodukter i en eksperimentel sårmodel:

45 brune hanmink indgik i forsøget. Minkene blev delt i 3 grupper á 15 mink: A) eksperimentelt sår behandlet med antibiotika-produkt (Cyclo Spray Vet), B) eksperimentelt sår behandlet med ikke-antibiotika-produkt og C) Kontrolgruppe, sham-opereret (dvs. minken gennemgik alle de samme procedurer som minkene med eksperimentelle sår, bortset fra at der ikke blev lavet et sår). Både mink fra gruppe A, B og C blev bedøvet i forbindelse med indgrebet. Der blev udtaget blodprøve på dag 0, dag 3 og ved aflivning efter 14 dage. På dag 0 og dag 3 blev blodprøven udtaget fra forbenet og ved aflivning blev blodprøven taget ved indstik i hjertet efter forudgående bedøvelse. En beskrivelse af sårmodellen kan ses i Jespersen *et al.* 2015.

### Blodprøver

Blodprøverne blev udtaget i serumrør. De koagulerede serumrør blev slynget ned i centrifuge, og serum afpipetteret i et cryorør til nedfrysning ved -80 C. Prøverne blev transporteret i tøris til analyse på Aarhus Universitet.

### UHPLC-massespektrometri analyse

Før analyse blev serumprøverne behandlet med acetonitril for at fælde proteinerne. Prøverne blev centrifugeret og supernatanten indtørret. Den indtørrede prøve blev genopløst og

injiceret på HPLC (ultra high performance liquid chromatography, Ultimate 3000, Dionex). HPLC'en er koblet til et massespektrometer (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen), som detekterer positive eller negative ioner efter prøven er blevet ioniseret ved elektropray ionisering. En detaljeret beskrivelse af metoden findes i Hedemann and Damgaard (2012).

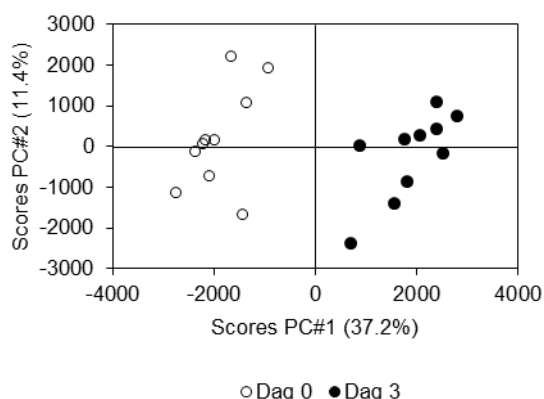
#### *Databehandling*

Data blev analyseret vha. kemometriske metoder, som er avancerede mønstergenkendelsesmetoder. Der anvendes både Principal Component Analyse (PCA) og Partial Least Square Discriminant analysis (PLS-DA). Ved at bruge disse metoder kan man identificere eventuelle grupperinger, der indikerer forskelle i metabolitmønstret, og metabolitterne, som har størst betydning for grupperingen, kan identificeres.

### Resultater og diskussion

#### *a) Pilotstudie*

Analysen af serumprøverne fra pilotstudiet viste en gruppering af prøverne, dag 0 og dag 3 (Figur 1). Det betyder, at der er forskel på koncentrationen af nogle af metabolitterne i serumprøverne fra de to grupper.



Figur 1. PCA-scores plot af serumprøverne fra pilotstudiet.

En gennemgang af de metabolitter, som havde betydning for grupperingen viste, at bedøvelsesmidlet (ketamin og

medetomidin), som blev brugt til aflivning på dag 3, tydeligt kunne genfindes og udgjorde en af de væsentlige forskelle mellem prøverne. Der var også forskel på koncentrationen af andre metabolitter, men da det er vist, at de bedøvelsesmidler som blev brugt, har stor indflydelse på omsætningen hos hunde (Ambrisko and Hikasa, 2002), blev det besluttet at analysere prøver fra de andre forsøg for at belyse effekten af bedøvelsen yderligere.

#### *b) Proteinforsøg*

Analysen af prøverne fra mink, som havde fået forskellig mængde protein i foderet, viste, at der ikke kunne påvises en gruppering af prøverne (Figur 2a). Dette er i modsætning til tidligere resultater, hvor det blev fundet, at mink som havde fået 20 % OE<sub>p</sub> adskilte sig fra mink som havde fået 24 eller 28 % OE<sub>p</sub> (Hedemann *et al.*, 2014). I det studie var minkene dog blevet fodret med de forskellige proteinniveauer igennem længere tid, hvilket kan have haft stor betydning. Hvis minkene i stedet blev markeret i forhold til hvilken dag prøven blev taget, kunne der ses to grupperinger, dag 1-14 og dag 30-60 (Figur 2b), hvilket viser at der sker en udvikling i metabolitmønsteret over tid efter såret er lavet.

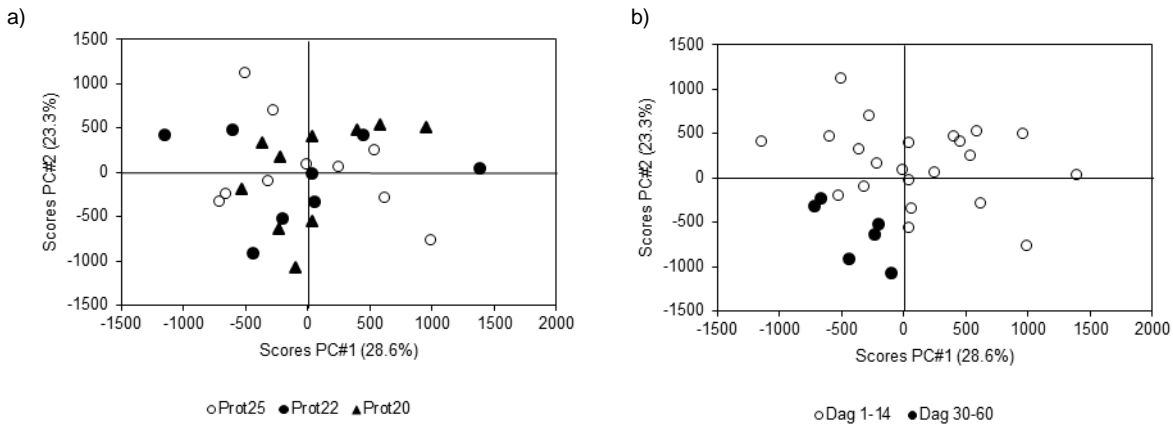
Der var en metabolit, som var den mest betydende for grupperingen mellem dag 1-14 og dag 30-60. Denne metabolit var identisk med en af de betydende metabolitter i pilotstudiet, og kunne potentielt være interessant.

#### *Præliminær kvantificering af arginin og prolin i proteinforsøget*

Hos mennesker og mus er det vist, at en akut betændelse induceret med lipopolysaccharid medfører ændringer i koncentrationen af argininmetabolitter i plasma (Brown *et al.*, 2011). Stimuleringen med lipopolysaccharid er en model for sårhelingsprocessen, og

derfor blev der i proteinforsøget lavet en præliminær bestemmelse af koncentrationen af arginin og prolin, som var de to

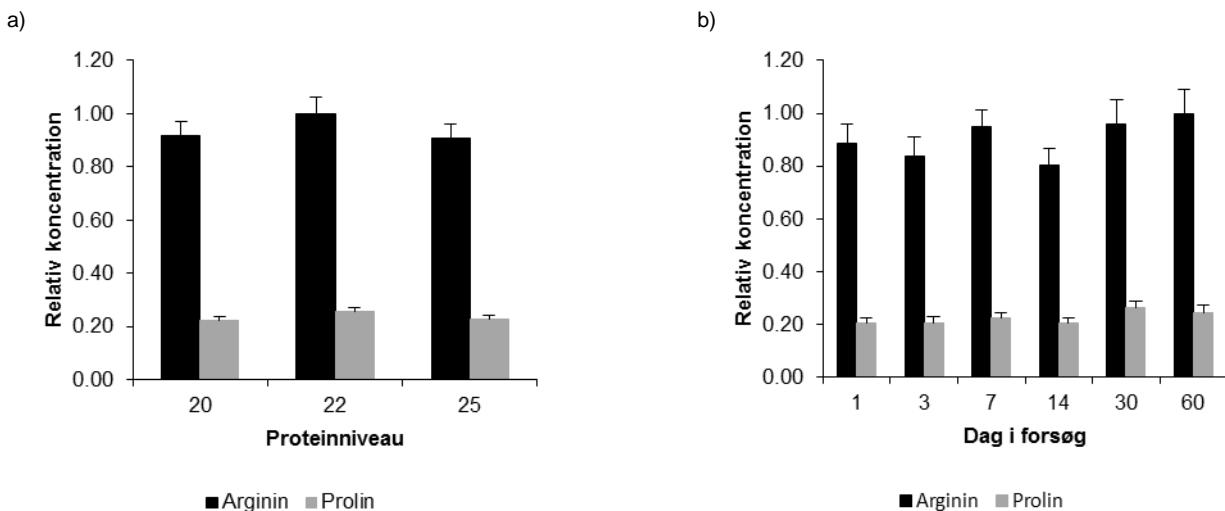
metabolitter, hvor der blev fundet signifikante ændringer i museforsøg.



Figur 2. PCA-scores plot af serumprøverne fra proteinforsøget, hvor de enkelte dyr er markeret enten ud fra proteinniveauet i deres foder (a) eller ud fra aflivningsdagen (b).

Først blev det undersøgt om proteinniveauet i forsøgsfoderet havde en betydning for koncentrationen af arginin og prolin i serum. Det ses i Figur 3a at dette ikke er tilfældet, koncentrationen af de to aminosyrer er ikke forskellig ved de tre proteinniveauer. Herefter blev det

undersøgt om koncentrationen af arginin og prolin ændredes med tiden i forsøget. Det ses i Figur 3b at dette ikke er tilfældet. Dermed kan der ikke i dette forsøg findes nogen forbindelse mellem arginin og prolin og sårhelingsprocessen.



Figur 3. Den relative koncentration af arginin og prolin i serum fra mink fodret med tre niveauer af protein (a) og på de seks forsøgsdage (b). Værdierne er LSMMeans med SEM.

### c) Test af sårbehandlingsprodukter i en eksperimentel sårmodel

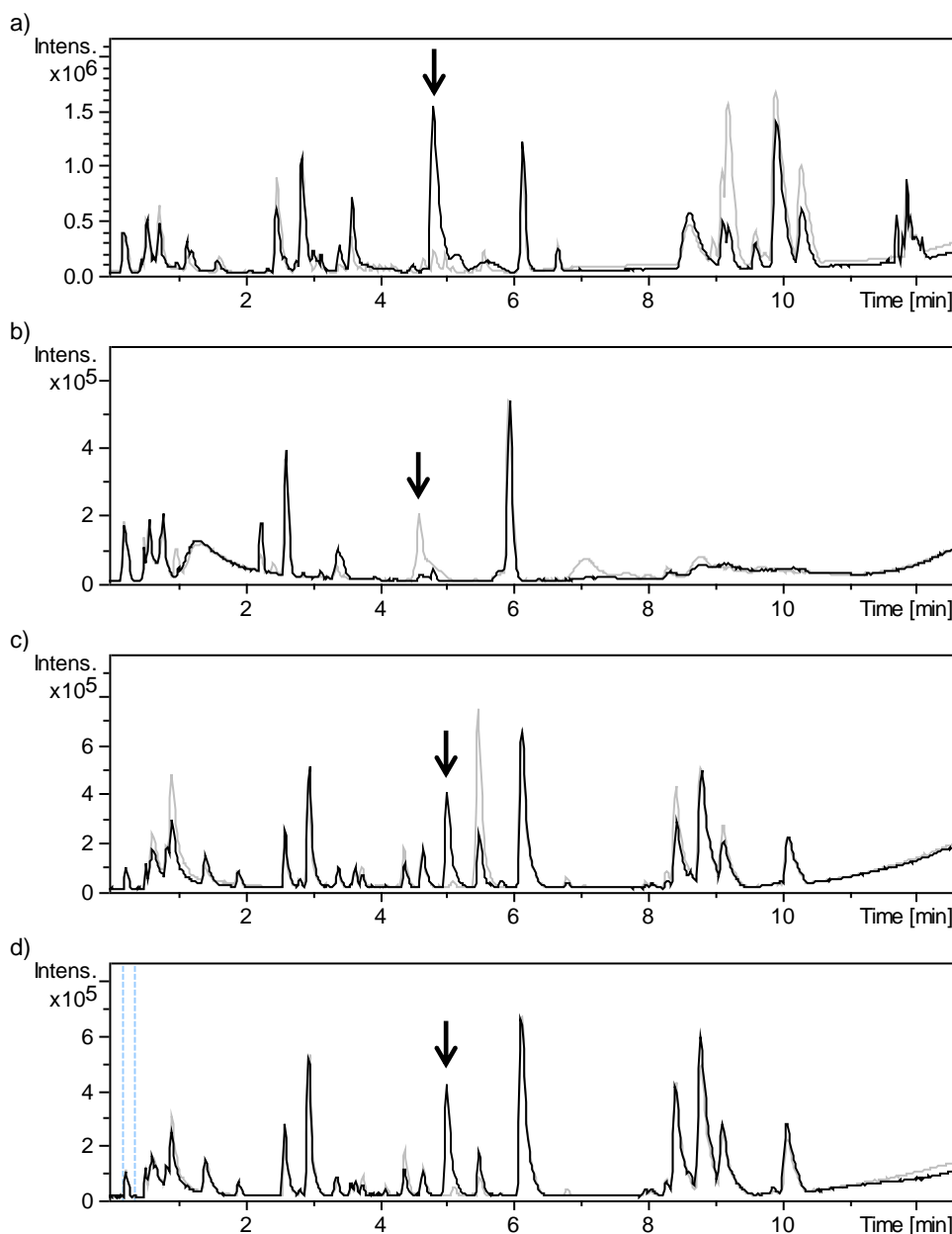
Dette forsøg har to umiddelbare fordele i forhold til de to andre forsøg, 1) der er to blodprøver, som er taget uden forudgående bedøvelse (dag 0 og dag 3) og 2) der er en sham-opereret

kontrolgruppe, som er behandlet på samme måde som de øvrige dyr (herunder bedøvelse), dog uden der er blevet lavet et sår på dem.

Allerede det første blik på resultaterne fra denne forsøgsserie viste, at den metabolit, som var blevet fundet i de to

tidligere forsøgsserier, ikke havde noget med sårheling at gøre. Metabolitten fandtes ikke hos nogle af dyrene på dag 0, men på dag 3 fandtes den hos alle dyrene. Dvs. det er højst sandsynligt en rest af bedøvelses-midlet, som blev brugt på dag 0, da de eksperimentelle sår blev lavet. Dette bekræftes af, at koncentrationen af metabolitten i proteinforsøget blev lavere med tiden, og dermed var vigtig for grupperingen mellem dag 1-14 og dag 30-60.

I figur 4 ses hvordan metabolitten med massen 220.998 ændres i alle forsøgene og også hos dyr, som ikke har fået et eksperimentelt sår (Figur 4d). Dermed kan det ikke være en metabolit, som har betydning for sårhelings-processen, men sandsynligvis en rest af bedøvelses-midlet, som blev brugt da dyrene fik lavet sår/blev sham-opereret. Resultaterne fra dag 3 og dag 14 blev gransket nærmere, for at finde mulige markører for sårhelingsprocessen.



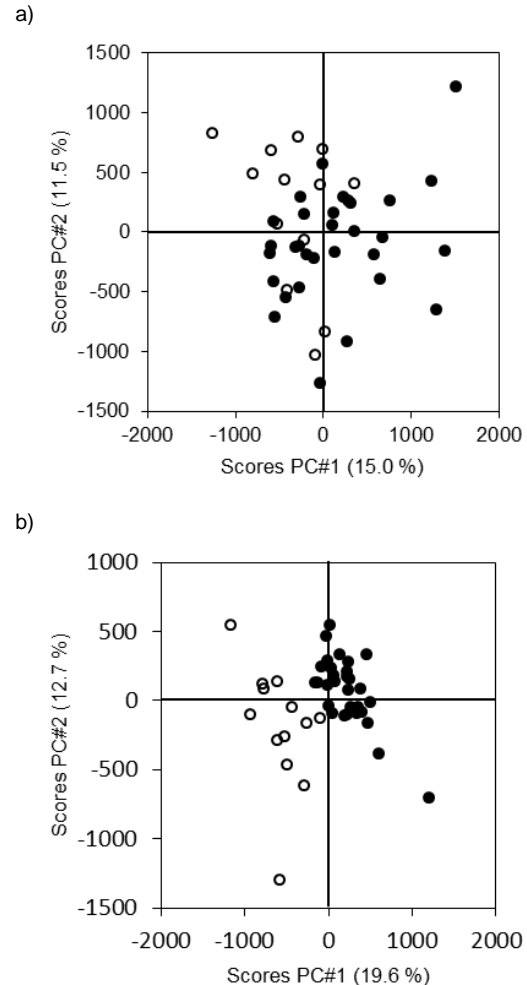
Figur 4. Kromatogrammer, som viser den top (pilen), som i første omgang blev sat i forbindelse med sårhelingsprocessen, a) prøver fra pilotforsøget; grå linje: dag 0, sort linje: dag 3, b) prøver fra proteinforsøget; grå linje: dag 1, sort linje: dag 60, c) prøver fra sårforsøg III, dyr med sår; grå linje: dag 0, sort linje: dag 3, d) prøver fra sårforsøg III, dyr uden sår; grå linje: dag 0, sort linje: dag 3. Pilen angiver metabolitten (masse/ladning 220.998), som blev udpeget som interessant i pilot- og proteinforsøget.

Figur 5 viser, at der er ikke er nogen adskillelse mellem dyr uden og med sår på dag 3 mens der på dag 14, efter at såret er blevet lavet, ses en adskillelse. Det betyder, at der findes metabolitter i serum, som findes i forskellig koncentration hos dyr uden og med sår. Derimod var der ingen effekt af de to produkter, som blev benyttet til sårbehandling, på metabolit-mønsteret (resultater ikke vist). En foreløbig identifikation (dvs. identifikationen er ikke bekræftet med standarder) af nogle af metabolitterne med betydning for adskillelsen på dag 14 viste, at der kan være tale om metabolitter/faktorer med betydning for sårhelingsprocessen (Tabel 1).

**Tabel 1. Retentionstider, masse og foreløbig identifikation af metabolitter i serum med betydning for adskillelsen mellem dyr og uden og med sår på dag 14 efter såret er lavet.**

Retentionstid (min)	Masse (m/z)	Foreløbig identifikation	Ændring ved sår
0.58	96.960	Svovlsyre	↑
0.96	89.024	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	↓
1.44	103.040	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	↑
2.59	208.083	Tryptofan	↑
3.33	129.056	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub>	↓
3.84	151.040	3-Metylsalisylsyre	↑
5.82	369.228	Thromboxane B2	↑
6.08	353.233	Prostaglandin	↑

Metabolitterne 3-metylsalisylsyre, thromboxane B2 og prostaglandin, findes alle i højere koncentration hos dyrene med sår, og de spiller alle en rolle i sårhelingsprocessen. 3-metylsalisylsyre har fibrinolytisk aktivitet, idet den aktiverer det fibrinolytiske system i plasma. Thromboxane B2 er en inaktiv metabolit af thromboxane A2. Den er ikke involveret i blodpladeaktivering og sammensmeltning, men det er dens precursor thromboxane A2. Prostaglandiner er blandt andet involveret i inflammatoriske processer.



**Figur 5. a) PCA scores plot dag 3, negativ mode og b) PLS-DA scores-plot dag 14, negativ mode (○ ikke sår, ● sår).**

## Konklusion

Dette forsøg viste tydeligt, hvor vigtigt det er, at dyr, som skal sammenlignes, behandles ens, og hvor stor betydning brug af eksempelvis bedøvelsesmidler har på sammensætningen af metabolitter i serum. Der kan således findes metabolitter af bedøvelsesmidlet i mindst 14 dage efter dyret har været bedøvet. Der var således kun i delforsøget Sårforsøg III, at det var muligt at finde potentielle markører for sårhelingsprocessen. Der er lavet en foreløbig identifikation af tre metabolitter (3-metylsalisylsyre, thromboxane B2 og prostaglandin), som kan relateres til sårhelingsprocessen. Flere forsøg er nødvendige for at afgøre om disse tre metabolitter er markører for sårhelingsprocessen. Samtidig kunne det være

interessant at undersøge, om man, ved at tilsætte disse stoffer til foderet eller stimulere dannelsen af dem i dyret, kan fremskynde sårhelingsprocessen.

## Referencer

- Ambrisko, T.D., Hikasa, Y., 2002. Neurohormonal and metabolic effects of medetomidine compared with xylazine in beagle dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research-Revue Canadienne de Recherche Veterinaire* 66, 42-49.
- Brown, C.M., Becker, J.O., Wise, P.M., Hoofnagle, A.N., 2011. Simultaneous Determination of 6 L-Arginine Metabolites in Human and Mouse Plasma by Using Hydrophilic-Interaction Chromatography and Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Clinical Chemistry* 57, 701-709.
- Clausen, T.N. 2006. Hvad dør mink af gennem et produktionsår. I: S.H. Møller (red) *Store mink – store udfordringer, produktion af højtydende mink uden uønskede følgevirkninger*. Intern rapport, Husdyrbrug nr. 2, september 2006, 68-78.
- Debats, I.B.J.G., Wolfs, T.G.A.M., Gotoh, T., Cleutjens, J.P.M., Peutz-Kootstra, C.J., van der Hulst, R.R.W.J., 2009. Role of arginine in superficial wound healing in man. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* 21, 175-183.
- Delavary, B.M., van der Veer, W.M., van Egmond, M., Niessen, F.B., Beelen, R.H.J., 2011. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology* 216, 753-762.
- Hansen S.W. 2012. Bidmærker er tegn på aggression blandt mink. I: S.W. Hansen & B.M. Damgaard (red) *Temadag om aktuel minkforskning*. DCA Rapport nr. 010, september 2012, 20-24.
- Hammer, A.S., Jensen, H.E. 2012. Patologiske undersøgelser af sår og hudlæsioner hos minkhvalpe. I: S.W. Hansen & B.M. Damgaard (red) *Temadag om aktuel minkforskning*. DCA Rapport nr. 010, September 2012, 25-28.
- Hedemann, M.S., Damgaard, B.M., 2012. Metabolomic study of plasma from female mink (*Neovison vison*) with low and high residual feed intake during restrictive and *ad libitum* feeding. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics* 7, 322-327.
- Hedemann, M.S., Damgaard, B.M., Clausen, T.N., Larsen, P.F. 2014. Effekten af reduceret proteinindhold i foderet på den metaboliske profil i plasma. *Faglig Årsberetning 2013*. 77-84. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.
- Jespersen, A., Hammer, A.S., Dich-Jørgensen, K., Østergaard, I., Jensen, H.E., Agger, J.F. 2015. Individuel variation i sårhelingen hos farmmink. *Faglig Årsberetning 2014*. 155-161. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.
- Rattenborg, E., Dietz, H.H., Andersen, T.H., Møller, S.H., 1999. Mortality in farmed mink: Systematic collection versus arbitrary submissions for diagnostic investigation. *Acta Veterinaria Scandinavica* 40, 307-314.
- Raynaud-Simon, A., Belabed, L., Le Naour, G., Marc, J., Capron, F., Cynober, L., Darquy, S., 2012. Arginine plus proline supplementation elicits metabolic adaptation that favors wound healing in diabetic rats. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 303, R1053-R1061.





# Foreløbige resultater af undersøgelser af den mikrobielle sammensætning i tarmkanalen hos farmmink (*Neovison vison*)

Anne Sofie Hammer<sup>1</sup>, Lars Andresen<sup>1</sup>, Tove N. Clausen<sup>2</sup>, Anabelle Jacobsen<sup>1</sup> & Martin Iain Bahl<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Det sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, Ridebanevej 3, DK-1870 Frederiksberg,

<sup>2</sup>Kopenhagen fur, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

<sup>3</sup>Afdeling for Fødevarer mikrobiologi, DTU Fødevareinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Mørkhøj Bygade 19, DK-2860 Søborg,

## Sammendrag

Der er meget begrænset viden om den bakterielle sammensætning i minkens tarmkanal, hvilket blandt andet gør det vanskeligt at evaluere betydningen af bakterielle fund hos syge mink. Ved anvendelse af en tværfaglig forskningsmetode, som omfatter massesekventering og patologiske metoder, er den bakterielle sammensætning i tarmkanalen (tarm mikrobiota) hos mink undersøgt. Foreløbige resultater, som omfatter prøver udtaget fra mink og minkfoder, viser tydeligt, at sammensætningen af minktarmens mikrobiota er meget forskellig fra den bakterielle sammensætning i minkfoderet. Hos de undersøgte mink var tarmens mikrobiota domineret af anaerobe bakterier som tilhører phylum Firmicutes og der blev påvist individuel variation i mikrobiota hos de undersøgte mink, hvilket er foreneligt med hvad der er beskrevet hos mennesker og andre rovdyr. Massesekventering vurderes at være en brugbar metode til at kortlægge den bakterielle sammensætning i minkens tarm. De foreløbige undersøgelser, der er præsenteret i denne rapport, er en del af et projekt der har til formål at anvende moderne molekylærbiologiske redskaber til undersøgelse af den bakterielle sammensætning i tarmen hos mink og at undersøge sammenhænge med sundhed og sygdom. Projektet er et samarbejde mellem Københavns Universitet, Danmarks Tekniske Universitet og Kopenhagen Forskning.

**Hammer, A.S. Andresen, L., Clausen, T.N., Jacobsen, A. & Bahl, M.I. 2016.** Foreløbige resultater af undersøgelser af den mikrobielle sammensætning i tarmkanalen hos farmmink (*Neovison vison*). Faglig Årsberetning 2015, 127-131. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

Currently there is very limited data available on the bacterial composition in the mink intestinal tract (gut microbiota). This makes it difficult to evaluate the significance of bacterial findings in mink. Using a cross-disciplinary approach, high throughput sequencing and pathological methods were applied for analysis of the mink gut microbiota. Preliminary analysis of samples from mink gut and mink feed clearly shows that the gut microbiota is very different from the composition of the microbiota in mink feed. Similar to reports on the microbiota in other carnivores and humans, mink intestinal microbiota was found to be dominated by anaerobic bacteria belonging to the phylum Firmicutes. Individual variability in the bacterial composition was found among the examined mink, which is consistent with what is described in humans and other animal species. The preliminary results presented in this report are part of a project aimed at mapping the microbial composition in the mink gut microbiota and to evaluate associations between gut microbiota and mink health. The project was initiated as a corporation between Copenhagen University, DTU National Food Institute and Kopenhagen Research.

**Hammer, A.S. Andresen, L., Clausen, T.N., Jacobsen, A. & Bahl, M.I. 2016.** Preliminary results of investigations of gut microbiota of farm mink (*Neovison vison*). Annual Report 2015, 127-131. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** Sundhed, mikrobiologi, mikrobiota, mave- og tarmkanal, mink, *Neovison vison*,

## Indledning

I løbet af de sidste årtier er det blevet klart at de bakterier der naturligt findes i tarmen hos raske pattedyr, kaldet tarmens mikrobiota, har stor indflydelse på værtsdyrets udvikling og sundhedstilstand. Hos mennesker er tarmens

mikrobiota således vigtig for udviklingen af et velfungerende immunsystem, nedbrydning af "ikke-fordøjelige" kulstoffer og fibre, produktion af essentielle vitaminer og beskyttelse mod fødevarerborne sygdomsfremkaldende mikroorganismer. Endvidere er der fundet sammenhænge

mellem tarm mikrobiotaen og udviklingen af flere vestlige livsstilssygdomme som fx inflammatoriske tarmsygdomme, hjerte-kar sygdomme og sukkersyge (Cani *et al.* 2012, Tremaroli og Backhed 2012).

Sammensætningen af tarm mikrobiotaen hos forskellige dyrearter varierer meget og afhænger bl.a. af dyrenes evolutions-historie, taksonomiske placering og diæt (Ley *et al.* 2008). Det er kendt at dyr der alene lever af planter (herbivore), som fx drøvtyggere, har en mere kompleks mikrobiota sammensætning end dyr der alene lever af animalske produkter (rovdyr). Dette skyldes, at det i høj grad kræver mikrobiel fermentering at nedbryde og udvinde energi fra vise plantebestanddele som fx cellulose.

Minktarmens anatomi og fysiologi er forskellig fra de andre produktionsdyr, der helt eller primært er planteædere. Minken har en kort simpel tarmkanal uden blind-tarm, hvor tyndtarmen udgør størstedelen af tarmens længde (Tauson 1988, Stevens and Hume 1996) og minktarmens passagetid er kort – ca. fire timer (Hansen 1978). Især den korte passagetid har i flere studier givet ophav til inkonklusiv diskussion om hvorvidt minktarmen har en fysiologi der forhindrer etablering og opretholdelse af en normalflora hos minken (Pedersen og Jorgensen, 1992; Vulfson *et al.* 2003). I et studie af Pedersen og Jorgensen fra 1992 fandt man, at antallet af *E. coli* i tarmsystemet var meget lavt og aldrig et konstant fund. I et andet studie fandt man, at tarmsystemets kvantitative indhold af *E. coli* varierer alt efter minkens alder (Vulfson *et al.*, 2003). Sidstnævnte studie var baseret på undersøgelser af den dyrkbare aerobe fækale mikrofloras indhold og mængde af *E. coli* hos raske mink fra fødslen og frem til voksenalderen. Undersøgelser af den mikrobielle aktivitet i minktarmen har hidtil været baseret på traditionelle dyrknings-metoder (Williams *et al.* 1998, Vulfson *et*

*al.* 2003). Den begrænsede viden om den bakterielle sammensætning i minkens tarmkanal gør det vanskeligt at evaluere betydningen af bakterielle fund hos syge mink.

De foreløbige undersøgelser præsenteret i denne rapport er en del af et projekt der har til formål at kortlægge sammensætningen af bakterier i minkens tarm (tarm mikrobiota). Projektet er et samarbejde mellem Københavns Universitet, Danmarks Tekniske Universitet og København forskning.

## Materiale og metoder

### Materiale

I forbindelse med projektet er der udtaget prøver til mikrobiota bestemmelse fra 26 dyr der indgik i et fasteforsøg. Der indgik i denne undersøgelse to fodergrupper. Fodergruppe 1 (FC\_feed) var 13 mink fodret med fodercentralfoder, hvoraf 11 var fastet i 3 dage ved prøveudtagning. I fodergruppe 2 (FW\_feed) indgik 13 mink fodret med foder produceret på København Farm, hvoraf 3 var fastet i tre dage på tidspunktet for prøveudtagning.

Ved obduktion blev registeret dato, journalnummer, København Farm ID nr., køn/farvetype, vægt ved obduktion, fedtlevergrad og eventuelle forandringer.

Der er anvendt patologiske undersøgelser (makroskopiske og histopatologiske) undersøgelser af tarmvæv og levervæv med henblik på at kategorisere de inkluderede mink som raske.

### Indsamling og opbevaring af prøver til mikrobiotaundersøgelse

Der blev indsamlet fæcesprøver og vævsprøver (tyndtarm- og tyktarmslimhinde) i rør egnet til frysning (nunc) med henblik på PCR og sekventering. Prøverne blev opbevaret ved -80°C indtil undersøgelse. Prøver til konventionel mikrobiologisk undersøgelse blev udtaget og opbevaret i glycerol ved -20°C indtil

dyrkningsundersøgelse. Der blev indsamlet vævsprøver (duodenum og colon) i formalin til histopatologisk undersøgelse. Prøver til mikrobiotaundersøgelse blev udtaget fra den proximale del af tarmen (duodenum og forreste del af ileojejunum), midttarmen (ileojejunum) og den distale del af tarmen (colon og rectum). Mucosalaget blev udtaget ved hjælp af en cell-scraper. Prøvematerialet blev opbevaret ved -80°C indtil analyse

### Sekventering

For at kortlægge den bakterielle sammensætning i tarmen hos mink er der udført "high-throughput" masse-sekventering af bakterielle 16S rRNA gener (amplicons) fra oprenset DNA (Wesolowska-Andersen *et al* 2014) fra prøver taget fra for-, midt- og bagtarm (skrap fra overfladen af slimhinden). Indsamling og karakterisering af prøverne er tidligere beskrevet.

Amplicon sekventering muliggør en dyb fylogenetisk karakterisering af bakteriepopulationens sammensætning på baggrund af de variable områder af det konserverede ribosomale 16S rRNA gen som findes i alle bakterier.

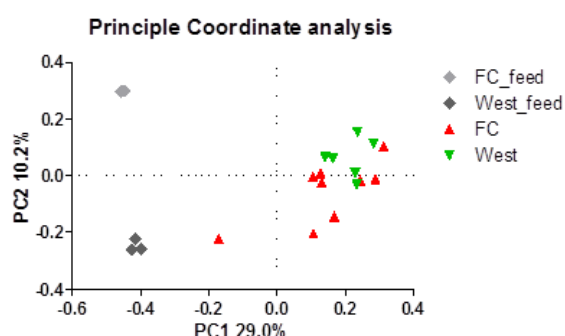
### Resultater

Den mikrobiologiske aktivitet (baseret på dyrkning) i foderet var tilsvarende den for tarmindholdet, men sammensætningen af bakterier i foder og tarmindhold varierede betydeligt. Minkene blev fodret med to typer foder: Fodercentralfoder (FC\_feed) og foder produceret på København Farm (West\_feed).

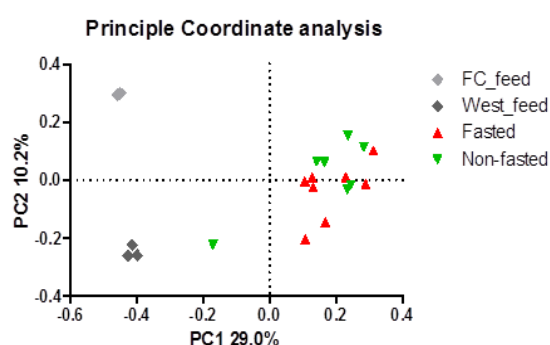
Resultater af massesekventeringen tyder på, at den bakterielle sammensætning i prøver fra minkens tarmkanal er domineret af anaerobe bakterier tilhørende phylum Firmicutes. En mindre andel af lactobaciller og en række andre grupper af bakterier blev påvist.

Ligheder og uligheder mellem individuelle mikrobiotabestemmelser for dyre- og foderprøver er illustreret med "principle coordinate" analyse (figur 1). Dette er en metode til at visualisere ligheder og forskelle i datasæt. Udgangspunktet er et koordinatsystem, hvor nærhed eller afstand mellem punkterne illustrerer hvor ens eller forskellige mikrobiota sammensætningen er på prøver fra hhv. mink og foder. Jo tættere punkterne er placeret, jo mere ens er den mikrobiologiske sammensætning i prøverne.

A



B



Figur 1. "Principal Coordinate Analysis" er en metode til at visualisere ligheder og forskelle i datasæt. Udgangspunktet er en matrix, hvor nærhed eller afstand mellem punkterne illustrere hvor ens eller forskellige datapunkterne er (i dette tilfælde mikrobiotabestemmelserne). I matrix A ses mikrobiotabestemmelser for foder og dyr opdelt efter hvilket foder de er fodret med. I matrix B vises mikrobiotabestemmelser for foder og dyr opdelt efter om de er fastede eller ikke fastede.

Prøverne fra tarmindehold grupperes samlet og ligner dermed hinanden mere end de ligner prøver fra foderet som grupperes adskilt fra tarmprøverne. På samme måde grupperes prøver fra fastede og ikke-fastede dyr samlet og ligner dermed også hinanden mere end de ligner prøver fra foderet som grupperes adskilt fra disse. Grupperingen af prøverne fra tarmindeholdet i figur 1A og B illustrerer, at der er individuelle variationer i sammensætningen i prøver fra dyrene, dvs. sammensætningen af bakterier i tarmkanalen er ikke helt ens hos de individuelle mink der er undersøgt.

### Diskussion og konklusion

Undersøgelserne viser, at mink har en tarm mikrobiota som har en bakteriell sammensætning forskellig fra den bakterielle sammensætning i foderet og som ikke "forsvinder" efter perioder med faste. Undersøgelserne tyder også på, at der er individuelle variationer i minkenes tarm mikrobiota. Hos andre arter er det vist at individuelle variationer i tarm mikrobiota kan have betydning for sundhed og sygdomsforekomst. Det er som udgangspunkt svært at definere præcis, hvilken sammensætning af bakterier i tarmen der udgør en "sund" mikrobiota. Der er dog visse grupper af bakterier, heriblandt laktobaciller og bifidobakterier som netop også bruges som probiotika, hvis forekomst bliver betragtet som et sundhedstegn (Meyer og Stasse-Wolthuis 2009), hvorimod en høj forekomst af Proteobakterier, heriblandt enterobakterier, betragtes som negativ, da det bl.a. kan medføre en subklinisk inflammationstilstand i tarmen (Cani *et al.* 2008). Metabolitter der udskilles fra tarmbakterier vides at have indflydelse på epitelcellelaget, som udgør afgrænsningen mellem tarmlumens ydre miljø og kroppens indre miljø. Et eksempel er de kortkædede fedtsyrer (SCFA), der produceres af visse grupper af tarmbakterier og er en vigtig energikilde for epitelcellerne og dermed spiller en

rolle i forhold til at opretholde tarmens integritet og modstandsdygtighed over for udefrakommende patogener (Louis *et al.*, 2007).

Nyere undersøgelser tyder på at mink kan have sin egen mælkesyrebakterieflora, som har særlige egenskaber som potentielt gør dem bedre egnede som probiotika. Dels kan bakterierne have egenskaber der gør at de overlever bedre i minkens tarm og derudover er der undersøgelser der tyder på at nogen af minkens tarm bakterier kan have andre gunstige egenskaber, herunder evnen til at påvirke minkens fedt-metabolisme, og beskytte mod relaterede sygdomme (Nguyen *et al.* 2007; Liu *et al.* 2013; Xie *et al.* 2011; Tsai *et al.* 2009).

Projektgruppen har i det forgangne projekt år fokuseret på at etablere metode til prøveudtagning fra mink med henblik på mikrobiota bestemmelse. Massesekventering vurderes at være en brugbar metode til at kortlægge den bakterielle sammensætning i minkens tarm. Øget viden om den bakterielle sammensætning i tarmen hos raske og syge mink, herunder betydningen af individuelle variationer, vil bidrage til at forbedre forståelsen af minkens tarm og kan på sigt fremme udviklingen af bedre og mere begrundede mink profylaktiske probiotiske kandidater og relaterede tilsætningsstoffer til brug i minkproduktionen.

### Efterskrift

En særlig tak går til ansatte på Kopenhagen Farm for stor tålmodighed og hjælp i forbindelse med dataregistrering og prøveudtagning. Projektet var medfinansieret af Dansk Pelsdyravlerforenings Forskningsfond.

### Referencer

Cani, P.D., Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A.M., Delzenne, N.M. and Burcelin, R. 2008. Changes in gut

microbiota control metabolic  
endotoxemia-induced inflammation in  
high-fat diet-induced obesity and diabetes  
in mice. *Diabetes*. 57(6):1470-81.

Cani, P. D., M. Osto, L. Geurts, and A.  
Everard. 2012. Involvement of gut  
microbiota in the development of low-  
grade inflammation and type 2 diabetes  
associated with obesity. *Gut Microbes*.  
3:279-288.

Hansen, N.E. 1978. The influence of  
sulfuric acid preserved herring on the  
passage time through the gastro-  
intestinal tract in mink. *Zeitschrift für  
Tierphysiologie, Tierernährung und  
Futtermittelkunde*, 40, 285-291.

Ley, R. E., M. Hamady, C. Lozupone, P.  
J. Turnbaugh, R. R. Ramey, J. S. Bircher,  
M. L. Schlegel, T. A. Tucker, M. D.  
Schrenzel, R. Knight, and J. I. Gordon.  
2008. Evolution of mammals and their gut  
microbes. *Science* 320:1647-1651.

Liu, H. Yang, J. Jing, I. Li, Z Zhong, W.  
and Li, G. 2013. Ability of lactic acid  
bacteria isolated from mink to remove  
cholesterol: in vitro and in vivo studies.  
*Can. J. Microbiol.* 59: 563–569.

Louis, P., K. P. Scott, S. H. Duncan, and  
H. J. Flint. 2007. Understanding the  
effects of diet on bacterial metabolism in  
the large intestine. *J. Appl. Microbiol.*  
102:1197-1208.

Meyer, D. and M. Stasse-Wolthuis. 2009.  
The bifidogenic effect of inulin and  
oligofructose and its consequences for  
gut health. *Eur. J. Clin. Nutr.* 63, 1277-  
1289.

Nguyen, T.D.T., Kang, J.H., and Lee,  
M.S. 2007. Characterization of  
*Lactobacillus plantarum* PH04, a potential  
probiotic bacterium with cholesterol-  
lowering effects. *Int. J. Food Microbiol.*  
113: 358–361.

Pedersen K. and Jorgensen M. 1992:  
Lactic acid bacteria for mink. Colonization  
and persistence of *Enterococcus*

Stevens, E. C. og Hume, I.D., Carnivora.  
1995. In: *Coperative physiology of the  
vertebrate digestive system*. 2nd ed.  
New York, NY10011-4211, USA:  
Cambridgde University Press. 58-60

Tauson, A.-H. 1988. III. 5. Fur-bearing  
animals. *Livestock Production Science*  
19, 355-367.

Tremaroli, V. and F. Backhed. 2012.  
Functional interactions between the gut  
microbiota and host metabolism. *Nature*  
489, 242-249.

Tsai, T.Y., Chu, L.H., Lee, C.L. and Pan,  
T.M. 2009. Atherosclerosis-preventing  
activity of lactic acid bacteria-fermented  
milk–soymilk supplemented with  
*Momordica charantia*. *J. Agric. Food  
Chem.* 57: 2065–2071.

Vulfson, L., Pedersen, K., Chriel, M.,  
Andersen, T. og Dietz, H. 2003.  
Assessment of the aerobic faecal  
microflora in mink (*Mustela vison  
Schreiber*) with emphasis on *Escherichia  
coli* and *Staphylococcus intermedius*.  
*Veterinary Microbiology*. Vol. 93:3, pp.  
235-245.

Williams, C., Elnif, J. & Buddington, R. K.  
1998. The gastrointestinal bacteria of  
mink (*Mustelavison L*): influence of age  
and diet. *Acta Vet Scand* 39, 473-482.

Xie, N., Cui, Y., Yin, Y.-N., Zhao, X.,  
Yang, J.-W., Wang, Z.-G., Fu, N., Tang,  
Y., Wang, X.-H., Liu, X.-W., Wang, C.-L.  
and Lu, F.-G. 2011. Effects of two  
*Lactobacillus* strains on lipid metabolism  
and intestinal microflora in rats fed a  
highcholesterol diet. *BMC Complement.  
Altern. Med.* 11: 53.



# Anvendelse af behandlingskort til indsamling af data fra minkfarme med udbrud af diarré i diegivningsperioden

Christina Dahlin<sup>1</sup>, Julie Melsted Birch<sup>1</sup>, Jens Frederik Agger<sup>1</sup>, Henrik Elvang Jensen<sup>1</sup>, Tina Struve<sup>2</sup> & Anne Sofie Hammer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, Ridebanevej 3, 1870 Frederiksberg

<sup>2</sup>Kopenhagen Diagnostik, København Fur, Langagervej 74, Glostrup

## Sammendrag

I 2015 blev der gennemført en omfattende case-kontrol undersøgelse på minkfarme med udbrud af diarré i diegivningsperioden og kontrolfarme med lav eller ingen forekomst af diarré i diegivningsperioden. I forbindelse med undersøgelsen blev der designet et behandlingskort med henblik på systematisk registrering af data vedrørende behandlede kuld, herunder fødselsdato, farvetype, kuldstørrelse og behandlingsdata. I denne rapport præsenteres data vedrørende kuld som blev behandlet for diarré i diegivningsperioden. Der blev i alt registreret 2440 behandlede kuld på 8 af de deltagende farme (4 casefarme og 4 kontrolfarme), hvor avlerne blev bedt om at registrere alle behandlede kuld på behandlingskort. Hovedparten (73,6 %) af de behandlede kuld var som udgangspunkt store kuld (defineret som kuldstørrelse på 7 eller flere hvalpe ved første tælling) og hovedparten (83,5 %) var født før den 3. maj. Kortene kan fremadrettet være et nyttigt redskab til registrering af kuld- og behandlingsdata ved feltstudier af diarré i udbrud i diegivningsperioden, samt ved afprøvning af forebyggende tiltag og behandling.

**Dahlin, C., Birch, J.M., Agger, J.F., Jensen, H.E., Struve, T. & Hammer, A.S. 2016.** Anvendelse af behandlingskort til indsamling af data fra minkfarme med udbrud af diarré i diegivningsperioden. Faglig Årsberetning 2015, 133-140. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Abstract

In 2015 a case-control study was conducted on mink farms with outbreak of diarrhea in the pre-weaning period and control farms with low or no occurrence of diarrhea in the pre-weaning period. A treatment card was designed and applied for systematic registration of data concerning litter treatment and including date of birth, coat color and litter size. This report presents data concerning treatment for diarrhea in the pre-weaning period. Data was included for 2440 litters on 8 farms (4 case farms and 4 control farms), where the farmers were asked to record data on litters in antimicrobial treatment with treatment cards. The majority (73.6%) of the treated litters was initially big litters (defined as a litter size of 7 or more kits when litter size was initially recorded) and the majority (83.5%) was born before 3<sup>rd</sup> of May. The cards were found to be a useful tool for registration of litter data and treatment data during field studies of diarrhea in the pre-weaning period. The cards may also be applied for data registration in clinical trials evaluating the effect of measures taken for disease prevention or treatment.

**Dahlin, C., Birch, J.M., Agger, J.F., Jensen, H.E., Struve, T., & Hammer, A.S. 2016.**

Application of processing maps for collection of data from mink farms with an outbreak of diarrhea in the pre-weaning period. Annual Report 2015, 133-140. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** mink, kit, *Neovison vison*, pre-weaning diarrhea, case-control study

## Indledning

Diarré hos mink i diegivningsperioden (kaldet fedtede hvalpe) er en væsentlig årsag til nedsat vækst og øget dødelighed (Clausen 2010) og udgør dermed et produktionsøkonomisk problem såvel som et velfærdsproblem. Sygdommen overvåges ikke, så der er ikke noget klart overblik over sygdomskompleksets forekomst og økonomiske betydning. Det er generelt

vanskeligt at indsamle systematiske data fra minkfarme med sygdomsudbrud i diegivningsperioden.

Når kuld rammes af "fedtede hvalpe"-problemet, kan dødeligheden per kuld i gennemsnit være på omkring 1-2 hvalpe (16-33 %) (Clausen & Dietz 2004) og hos de overlevende hvalpe ses generelt nedsat vækst (Henriksen 1987, Clausen & Dietz 2004). Litteratur vedrørende



forebyggelse og behandling af diarré hos mink i de forskellige aldersgrupper er sparsom og primært baseret på enkelte observationer og erfaringer (Henriksen 1987, Hyldgaard-Jensen 1989). I nyere tid er der lavet årsagsmæssige undersøgelser af diarré i diegivningsperioden baseret på systematisk indsamlet materiale (Englund *et al.* 2002, Ullman *et al.* 2005, Ullman *et al.* 2006).

Tidligere er symptomkomplekset "diarré i diegivningsperioden" i forskningsmæssig sammenhæng blevet behandlet som én enkelt sygdomsmæssig enhed. Dette skyldes blandt andet, at der først for nylig er skabt fagligt og metodemæssigt grundlag for at skelne mellem forskellige ætiologiske typer af diarré i diegivningsperioden f.eks. ved screening for virus. Nyere undersøgelser tyder på, at symptomkomplekset nærmere er en generel fysiologisk reaktion ved diarré hos minkhvalpe, frem for en reaktion på en specifik ætiologisk årsag, og at der er ætiologisk forskellige typer af diarré i diegivningsperioden (Hammer *et al.* 2007, Hansen *et al.* 2014). Med andre ord – de kliniske tegn ved diarré i diegivningsperioden er nogenlunde ens, men kan have forskellige årsager. Disse forskellige typer bør formodentlig adskilles, hvis det skal være muligt at identificere risikofaktorer og redskaber til forebyggelse af udbrud.

Målet med denne pilotundersøgelse, var i første omgang, at vurdere anvendeligheden af behandlingskort til systematisk registrering af informationer om de behandlede kuld, herunder fødselsdato, farvetype, kuldstørrelse, behandling og behandlingsdato. I denne rapport præsenteres analyse af behandlingskort-data fra 4 kontrolfarme og 4 casefarme.

### **Materiale og metoder**

Denne pilotundersøgelse er en del af et case-kontrol studie udført i maj 2015 på

30 danske minkfarme beliggende i Jylland og på Fyn. Pilotundersøgelsen omfatter i alt 8 farme, hvor data blev registreret på i alt 2440 behandlede kuld. Case- og kontrolfarme blev udvalgt på baggrund af sygdomshistorie, hvor casefarme har haft store problemer med diarré i diegivningsperioden i de seneste år og kontrolfarme har haft lav eller ingen forekomst af diarré i diegivningsperioden. Udvælgelsen var således baseret på en forventning om at farmene også i 2015 ville have tilsvarende forekomst af diarré.

Med henblik på at indsamle data vedrørende kuld der behandles for diarré, fik avlerne uddelt behandlingskort. På kortene blev systematisk registreret data vedrørende behandlede kuld, herunder fødselsdato, farvetype, kuldstørrelse og behandlingsdata. Med "behandlede kuld" menes i denne rapport: kuld der er registreret behandlet for diarré i diegivningsperioden med antibiotika.

Kortene blev indsamlet fra farmene efter diegivningsperiodens afslutning, og data blev indtastet i Excel med henblik på videre analyse. For hver farm blev der desuden indsamlet oplysninger om farmstørrelse, antal kuld født, gennemsnitlig kuldstørrelse ved første tælling og fordeling af farvetyper. Ingen af de 8 farme har ved forespørgsel angivet, at de anvender systematisk kuldudjævning.

### **Resultater**

Ved forespørgsel til avlerne var den samlede procentvise andel af kuld med diarré på 4 casefarme: 14,9 % - 46,3 % og på 4 kontrolfarme: 3,4 % - 5,9 %. På de 8 farme blev der på behandlingskort registreret data for i alt 2440 kuld som blev behandlet for diarré med antibiotika. Yderligere 18651 kuld på de 8 farme blev ikke registreret på behandlingskort (Tabel 1).

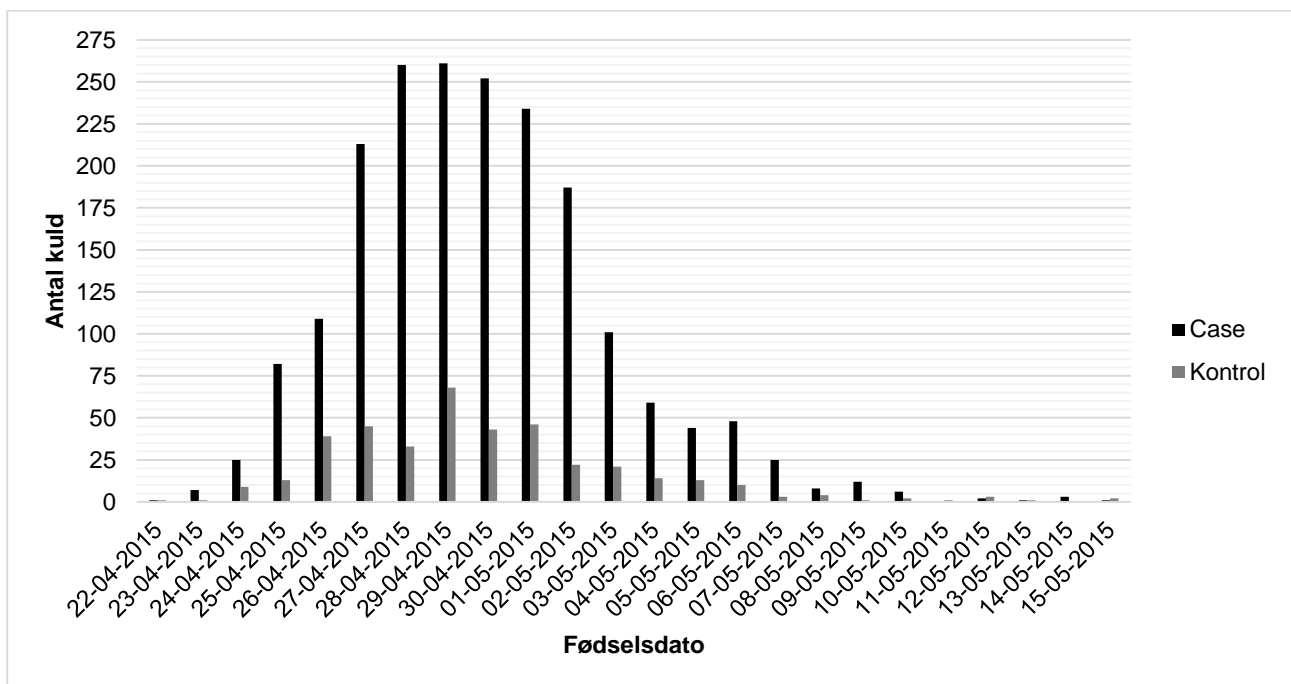
**Tabel 1. Oversigt over de enkelte besætningers antal af parrede tæver og gølge tæver, samt det fødte antal kuld på farmene og antallet af behandlede kuld ud fra behandlingskortene.**

	Antal parret tæver	Antal gølge tæver	Antal fødte kuld	Antal behandlede kuld (% behandlede kuld)
<b>Casefarme</b>				
A	3150	158	2992	201 (6,7)
B	5450	400	5050	213 (4,2)
C	2518	252	2266	424 (18,7)
D	3076	191	2885	700 (24,3)
<b>Kontrollfarme</b>				
E	3250	580	2670	113 (4,2)
F	890	40	850	37 (4,4)
G	1600	101	1499	57 (3,8)
H	3062	183	2879	99 (3,4)

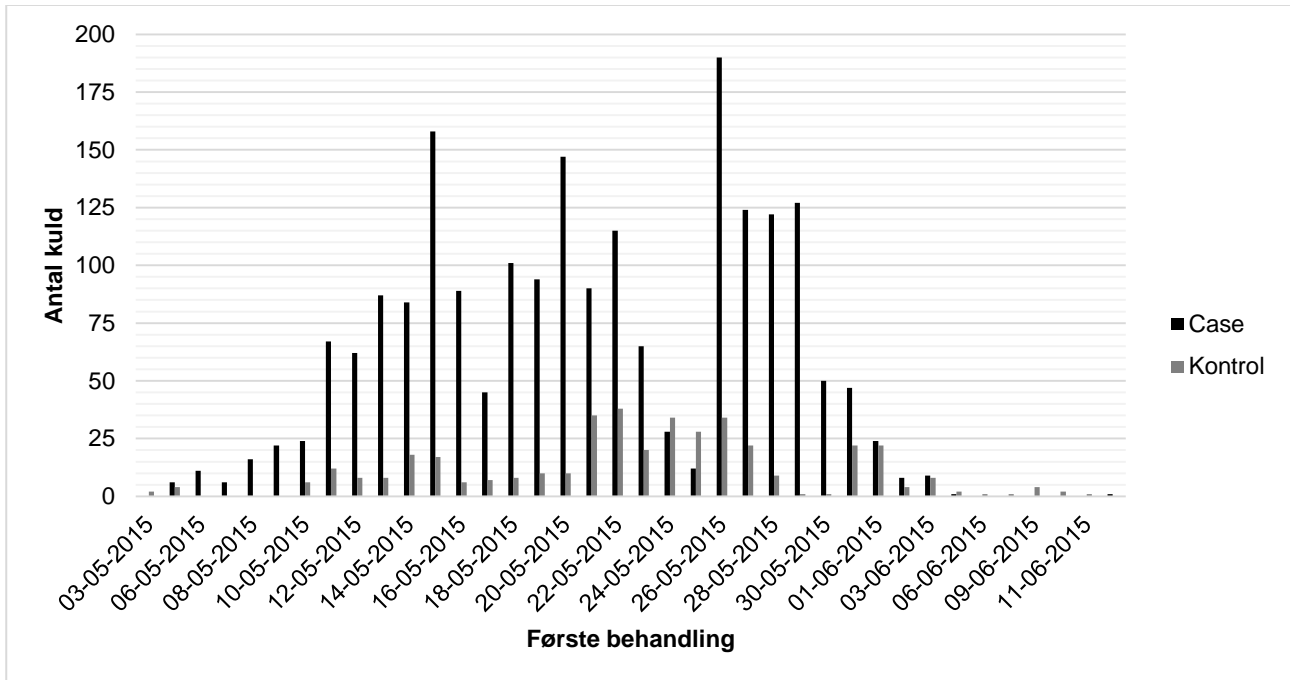
Af Tabel 1 fremgår det, at der på casefarme blev registreret fra 4,2 % til 24,3 % behandlede kuld og på kontrollfarmene blev der registreret fra 3,4 % til 4,4 % behandlede kuld. Hovedparten (83,5 %) af de behandlede kuld var født til og med den 2. maj. Fordelingen af behandlede kuld efter fødselsdato er vist i Figur 1.

Figur 2 viser fordelingen af første behandlingsdato. Behandlingerne blev igangsat i perioden 3. maj -11. juni 2015. Heraf blev 54 % af de behandlede kuld behandlet første gang i perioden 11.-22. maj, og 26 % af de behandlede kuld blev behandlet første gang i perioden 26. maj til 29. maj.

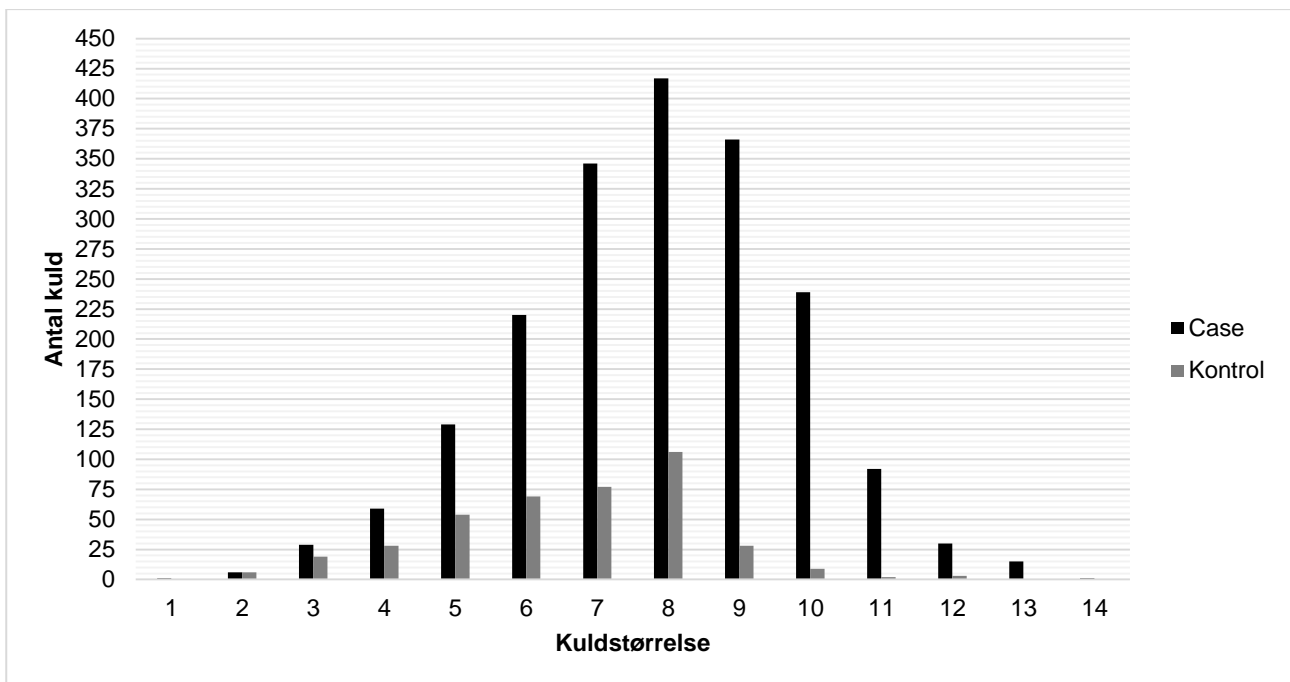
Figur 3 viser, at hovedparten (73,6 %) af de behandlede kuld var store kuld (defineret som kuldstørrelse på 7 hvalpe og derover). På 89 af behandlingskortene manglede oplysninger om kuldstørrelse. Kuldernes alder (i dage) ved første behandling er vist på Figur 4. Samlet set blev 96,5 % kuld behandlet første gang ved en alder på mellem 8 og 31 dage. Første behandling på kullet foretaget på de 10 første behandlingsdatoer (3.-13. maj) viser, at 78,3 % af de behandlede kuld på case- og kontrollfarme er store kuld.



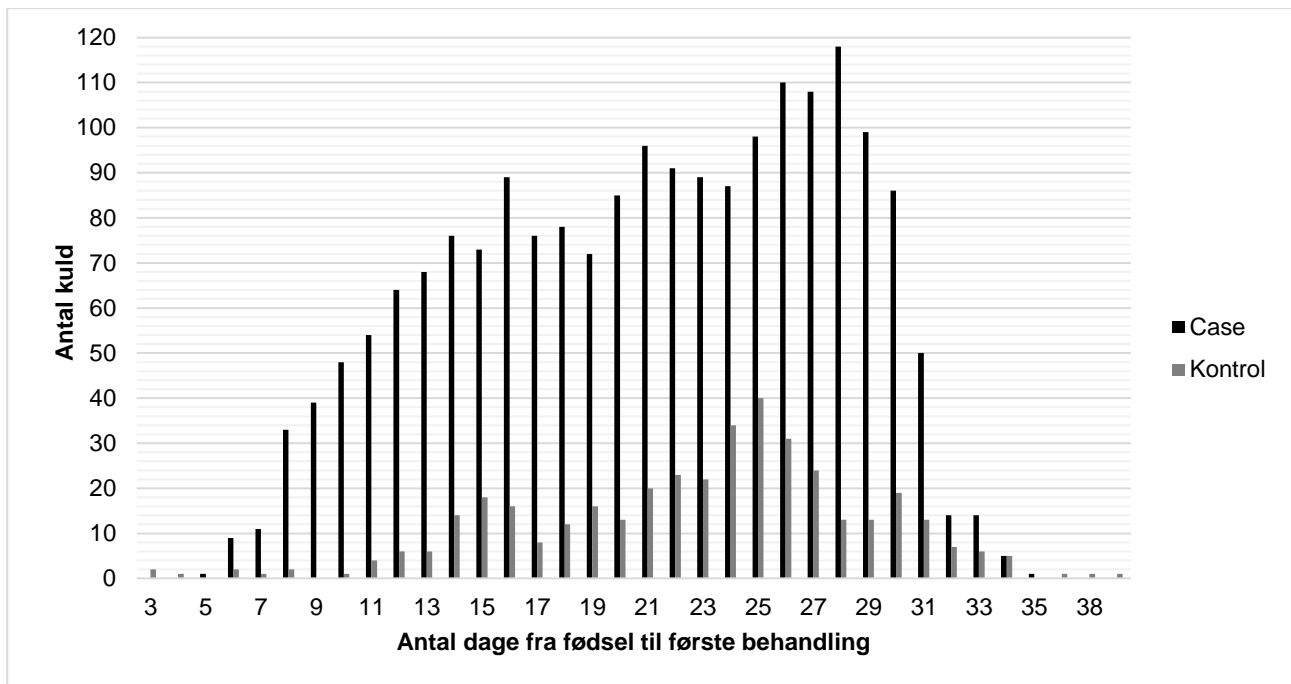
**Figur 1. Søjlediagrammet viser fordelingen af behandlede kuld (registreret på behandlingskort) efter fødselsdato på 4 casefarme (sorte søjler) og 4 kontrollfarme (grå søjler).**



Figur 2. Søjlediagrammet viser første behandlingsdato for 2440 behandlede kuld (registreret på behandlingskort) på 4 casefarme (sorte søjler) og 4 kontrolfarme (grå søjler).



Figur 3. Søjlediagrammet viser kuldstørrelse ved første tælling for 2351 behandlede kuld (registreret på behandlingskort) på 4 casefarme (sorte søjler) og 4 kontrolfarme (grå søjler).



Figur 4. Søjlediagrammet viser kuldets alder (dage) ved første behandling for 2337 behandlede kuld (registeret på behandlingskort) på 4 casefarme (sorte søjler) og 4 kontrolfarme (grå søjler).

## Diskussion

Det er interessant at behandlingerne på case- og kontrolfarmene følger et ens mønster angående kuldernes alder, fødselsdato og første behandlingsdato (Figur 1-4), -dog med et generelt lavere antal behandlinger på kontrolfarmene (Figur 4). Foreløbig er det kun behandlingskort fra 8 ud af 30 farme i case-kontrol undersøgelsen, der er medtaget. Yderligere undersøgelser vil vise om samme tendenser gør sig gældende på de øvrige farme, der har registreret data med behandlingskort. Dette tegner umiddelbart et billede af, at det er samme faktorer der udløser diarré på case- og kontrolfarme, men at forløbet af én eller anden grund involverer færre kuld på kontrolfarmene end på casefarmene. I forbindelse med et i gangværende PhD projekt vedrørende diarré i diegivningsperioden, er der indsamlet et omfattende data og materiale om management og mikrobiologi. Videre analyser af dette kan forhåbentlig bidrage til en forståelse af, hvilke faktorer der er medvirkende til at farmene har en høj eller lav forekomst af kuld med diarré.

Der ses en tendens til at behandlingerne blev initieret i to perioder i diegivningsperioden (Figur 2). 54 % af de behandlede kuld blev behandlet første gang i perioden 11.-22. maj, hvorefter 26 % af kuldene blev behandlet første gang i perioden 26.-29. maj. Man kunne forestille sig årsager til et periodevist fald i behandlinger på én farm, som f.eks. travlhed ved et stigende antal behandlingskrævende kuld – eller at en farm i en kort periode var uden behandlingskort. Det har også vist sig at nogle farme med mellemrum konsekvent gennemgår alle redekasser for evt. diarréudbrud, hvilket kan medvirke til at der på nogle dage kan ses flere behandlinger end på andre dage. Det virker dog ikke sandsynligt at dette skulle forekomme samtidig på de 8 farme i samme periode, og dermed forklare det fald i behandlinger der ses i perioden 22.-26. maj. Resultater fra en tidligere undersøgelse baseret på 58 danske farme, viste at diarré forekom i perioden fra 15.-30. maj (Chriél 1997).

Gennemsnitlig kuldstørrelse ved første tælling på de 4 casefarme var 6,3 hvalpe

per parret tæve og 6,0 hvalpe per parret tæve for de 4 kontrolfarme. Hovedparten (73,6 %) af de behandlede kuld var store (defineret som kuldstørrelse på 7 hvalpe og derover), mens en betydelig mindre andel (6,3 %) af de behandlede kuld var små (1-4 hvalpe) (Figur 3). Denne fordeling kunne tyde på at store kuld har større sandsynlighed for at få diarré end små kuld – eller i hvert fald ses hyppigere registreret end små kuld.

Samlet for hele perioden var 73,6 % af kuldene store kuld (7 hvalpe eller derover), og blandt de i alt 340 kuld, der blev behandlet indenfor de første 10 dage af farmudbrud, havde 78,2 % en kuldstørrelse på 7 eller derover. Dette bekræfter umiddelbart den tendens nogen avlere har nævnt, nemlig at udbrud af diarré i diegivningsperioden starter i de store kuld og senere omfatter kuld i alle størrelser.

Denne antagelse om kuldstørrelsens betydning for risikoen for at udvikle diarré, stemmer overens med en undersøgelse foretaget af Chriél (1997). Her viste det sig, at diarré hovedsageligt opstod i de store kuld (defineret som kuldstørrelse på 5 hvalpe og derover), og der var en betydelig (signifikant) sammenhæng mellem kuldstørrelse og risikoen for diarré i diegivningsperioden.

Hovedparten (83,5 %) af de behandlede kuld var født til og med 2. maj (Figur 1), hvilket kunne tyde på, at tidligt fødte kuld er mere tilbøjelige til at udvikle diarré. En tidligere undersøgelse dokumenterede dog, at diarré hovedsageligt forekom hos de sent fødte kuld (Chriél, 1997). For at kunne vurdere, hvorledes kuldets fødselstidspunkt indvirker på risikoen for at udvikle diarré, skal der gennemføres yderligere undersøgelser, og det vil forhåbentlig bidrage til forståelse af denne forskel.

Hovedparten (96,5 %) af de registrerede behandlinger blev påbegyndt hos kuld i alderen 8-31 dage. Antallet af påbegyndte behandlinger topper når hvalpene er 28 dage gamle og falder meget hurtigt i dagene derefter (Figur 4). Årsagen til dette kan være, at hvalpene udvikler aldersbetinget modstanddygtighed omkring denne alder. Chriél (1997) fandt at størstedelen af førstegangsbehandlingerne var i alderen 10-30 dage og toppede ved en alder på 24 dage. Dermed stemmer resultaterne fra pilotundersøgelsen godt overens med de tidligere fund.

### **Konklusion og perspektivering**

Både avlerens registrering af data og efterfølgende indtastning er meget resursekrævende. Øget digitalisering af dataregistreringer på farme, herunder udviklingen indenfor mobileenheder til at logge data, kan muliggøre indsamling af data i et omfang, der ikke tidligere har været opnåeligt. På sigt kan man håbe at elektronisk registrering kan mindske arbejdsbyrden ved dataregistrering og gøre denne type data mere tilgængelig for både avlere, praktiserende dyrlæger og forskere, men indtil sådanne redskaber findes almindeligt at anvende i besætningerne, er behandlingskortene et brugbart, men resursekrævende alternativ.

Der er set en tendens til, at de behandlede kuld, der er registreret på behandlingskort, hovedsageligt udgøres af store og tidligt fødte kuld, og at hovedparten af behandlingerne i gangsættes i to perioder, som måske kan hjælpe med at identificere risikoperioder i diegivningsperioden eller forskellige årsagsforhold. Case- og kontrolfarmene i denne undersøgelse viser et meget ens mønster i behandlingerne. Det er et vigtigt resultat i forhold til at vurdere om data fra disse farme rent faktisk er sammenlignelige. Resultaterne tyder med andre ord på, at sygdomsforekomst på

case- og kontrolfarme repræsenterer forskellige grader af samme problem, og at det vil være relevant at gå videre med yderligere undersøgelser, i forhold til om der er managementfaktorer eller mikrobiologiske forskelle der kan forklare forskellen.

De omtalte tendenser er kun baseret på et udsnit af de farme, der er indsamlet data og materiale på i forbindelse med case-kontrolundersøgelsen i 2015. Arbejdet med analyse af det samlede data og materiale vil fortsætte i 2016, med henblik på yderligere belysning af sygdomskomplekset diarré i diegivningsperioden, samt udrede mulige disponerende og beskyttende faktorer for case- og kontrolfarme.

Behandlingskortene giver mulighed for at registrere store mængder kuld- og behandlingsdata, som ellers ikke ville være tilgængelige for forskning. Behandlingskortene kan fremadrettet være et nyttigt redskab til registrering af vigtige kuld- og behandlingsdata fra farme i forbindelse med feltstudier af diarré i diegivningsperioden, samt ved registrering af behandlingseffekt eksempelvis ved klinisk afprøvning af forebyggende tiltag og behandling.

I denne undersøgelse sammenlignede vi behandlingsdata for farme, der har oplevet tilbagevendende udbrud med diarré i diegivningsperioden og farme der ikke har. Ved at undersøge ligheder og forskelle mellem farme, hvor diarré i denne periode er et stort problem og farme, hvor det ikke er, håber vi på sigt at finde måder at nedbringe sygdomsforekomst og antal behandlinger på farmene.

### Efterskrift

Vi ønsker at takke avlere og medarbejdere på de deltagende farme, som frivilligt har gjort en kæmpestor indsats både med behandlingskortene og

andre dele af projektet. Projektet er samfinansieret af København Fur, Københavns Universitet og Styrelsen for Forskning og Innovation.

### Referencer

Chriél, M. 1997. Lad minktæverne selv bestemme! Resultater fra den epidemiologiske undersøgelse af fedtede hvalpe i 1996. *Dansk Pelsdyrblad*, årgang 60, vol. 4, pp. 196-198.

Clausen, T.N. 2010. Kit death from birth to August the first. *Faglig Årsberetning* 2009. pp. 97-103.

Clausen, T.N. & Dietz, H.H. 2004. Wet kits in mink, a review. Anonymous (2004): *VIII International Scientific Congress in Fur Animal Production*. 15th-18th of September 2004 The Netherlands. pp. 87-90.

Englund, L., Chriél, M., Dietz, H.H. & Hedlund, K.O. 2002. Astrovirus epidemiologically linked to pre-weaning diarrhoea in mink. *Veterinary Microbiology*. Vol. 85:1, pp. 1-11.

Hammer, A.S., Ullman, K. & Czifra, G. 2007. Diarré i dieperioden IV: Astrovirus infektion hos minkhvalpe - virologiske og patologiske fund i fedtede hvalpe indsendt til diagnostisk undersøgelse. *Faglig Årsberetning* 2006. 2006:165-170.

Hansen, S., Krarup, L.I., Agger, J.F., Ullman, K., Hedlund, K. O., Klingström, J., Andresen, L. & Hammer, A.S. 2014. Undersøgelser af parvo-, corona- og astrovirus som årsager til diarréudbrud hos minkhvalpe i diegivnings- og vækstperioden 2013 – foreløbige resultater *Faglig Årsberetning* 2013

Henriksen, P. 1987. En oversigt over syndromet "Fedtede Hvalpe" hos mink. *Dansk Veterinær Tidsskrift*. Vol. 70:11, pp. 580-583.

Hyldgaard-Jensen, C. 1989. "Fedtede hvalpe" - lagttagelser over en treårig periode. *Dansk Veterinær Tidsskrift*. Vol. 72:10, pp. 566-571.

Ullman, K., Hammer, A.S., Hedlund, K.O., Thorén, P. & Czifra, G. 2006. Diarré i dieperioden hos minkhvalpe. III Prævalens af Mink Astrovirus (MiAstV) i fæcesprøver fra minkhvalpe på tre farme i

dieperioden. *Annual Report 2005*, pp. 159-163.

Ullman, K., Hedlund, K.O., Hammer, A.S., Dietz, H.H., Englund, L. & Czifra, G. 2005. Detection of Mink Astrovirus (MiAstV) in Clinical Samples with Real-time RTPCR. *Annual Report 2004*, pp. 197-201.

# Ekstra vandtildeling til sorte tæver og hvalpe i dieperioden

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

For at optimere hvalpenes overgang til foder og vand og øge tilvæksten, blev effekten af et vandingssystem til hvalpe undersøgt. Til undersøgelsen blev anvendt 3 hold sorte mink med hver 176 tæver. I kontrolholdet gik tæver og hvalpe i traditionelle bure med vandniplen for enden af buret, i de to forsøgshold blev monteret et vandingssystem, hvor niplen er placeret i 4. maske inde foran redekassen. I kontrolholdet og det ene forsøgshold blev foretaget delvis fravænnning af hvalpene dag 42 efter fødsel, i det andet forsøgshold blev hvalpene hos tæven indtil dag 56, hvorefter de blev fravænnet.

Der blev i denne undersøgelse ikke observeret en positiv effekt af at tildele ekstra vand tæt på redekassen på hvalpevægte dag 49, hvalpetab eller kuld med bid. Generelt var der en tendens til at de to hold hvor de store kuld blev delt dag 42, havde færre kuld med bid og højere tævevægte dag 49, sammenlignet med det hold hvor hvalpene ikke blev delt dag 42.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Ekstra vandtildeling til sorte tæver og hvalpe i dieperioden. Faglig Årsberetning 2015, 141-145. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

A water system to mink kits in the lactation period where the nipple is placed just outside the nest box was tested. To the investigation we used three groups of each 176 black mink females. In the control group females and kits were housed in traditional cages with the water nipple at the end of the cage, in the two investigation groups we installed a watering system where the nipple is placed in the fourth mask in front of the nest box. In the control group and one of the investigation groups we used partial weaning of the biggest kits day 42 after birth, in the other investigation group all kits stayed with the female until day 56 and thereafter weaned.

There was no significant effect of allocating additional water close to the nest box on kit growth, kit loss or litters with bite problems in this investigation. Generally, there was a tendency that in both groups where big kits were partially divided day 42 after birth, fewer litters with bite were present and the female body weight were higher at day 49 compared to the group where the kits were not divided day 42.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Additional water for mink kits in the lactation period. Annual Report 2015, 141-145. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Water, lactation period, body weight

## Indledning

Minkhvalpe begynder at æde når de når en alder af ca. 28 dage, men de begynder ikke at drikke før omkring 9 dage senere (Steffensen *et al.*, 2007). I den mellemliggende periode er de afhængige af tævens mælk og det vand de kan optage gennem foderet. Den nødvendige vandmængde til en hvalp er 2,7 til 3,1 gram vand pr gram fodertørstof (Clausen, 2010). For at hvalpene kan æde optimalt, er det derfor nødvendigt med så meget vand i foderet som muligt og et effektivt vandingssystem. Har hvalpene adgang til en åben vandflade (Steffensen *et al.*, 2007) eller et dryp-vandingssystem (Møller, 1991) begynder de at drikke

tidligere, ligeledes har placeringen af drikkeniplen betydning (Brink *et al.*, 2004). Hvalpe hvor drikkeniplen var placeret inde i redekassen eller lige udenfor redekasseåbningen, begyndte at drikke 4 dage før hvalpe i kontrolgruppen, ydermere blev der set mindre spytslikning, roligere hvalpe og mindre væggtab hos tæverne (De Rond & Kleyn van Willigen, 2012). Kaninvandflasker i redekassen fra dag 28 gav bedre tilvækst hos han- og tævehvalpe i perioden dag 28 til 42 og for tævehvalpene var tilvæksten bedre helt frem til dag 56 (Clausen & Larsen, 2014). Der blev ikke fundet forskel på bid mellem kuld med kaninvandflasker og kuld uden. Det blev



imidlertid fundet i andre forsøg, hvor der var færre bid, sår og mindre hvalpetab sidst i dieperioden hos kuld med kaninflasker frem for kuld uden (Jespersen *et al.*, 2014). For at optimere hvalpenes overgang til foder og vand og øge tilvæksten, blev effekten af et nyt vandingsystem til hvalpe undersøgt.

### Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 3 hold sorte mink med hver 176 tæver. I kontrolholdet gik tæver og hvalpe i traditionelle bure med vandniplen for enden af buret (KON), i de to forsøgshold blev monteret et vandings system, hvor niplen blev placeret i 4. maske inde foran redekassen (Billede 1).

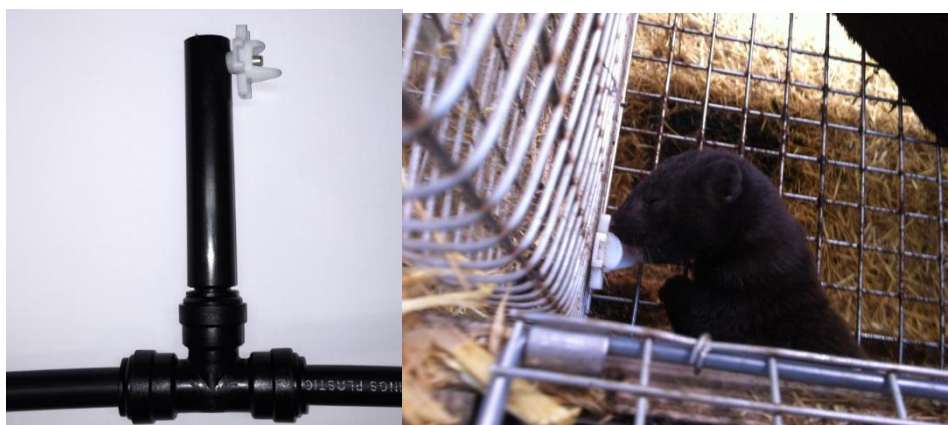
Hvalpevandingsystemet blev taget i brug da tæverne blev sat ind i hallen sidst i april, men på grund af slusen var det ikke muligt at anvende systemet før slusen blev fjernet dag 28 efter fødsel. Der blev anvendt fodercentralfoder fra Holstebro fodercentral i hele perioden. Dag 42 efter

fødsel blev foretaget delvis fravænning af store hvalpe i store kuld i henhold til Clausen & Larsen (2015a; 2015b) i KON og det ene forsøgshold (VA\_DE), i det andet forsøgshold (VA), blev hvalpene hos tæven indtil fravænning (tabel 1).

**Tabel 1. Forsøgsopsætning til forsøg med ekstra vandtildeling, 3 forsøgshold a 176 sorte tæver.**

Hold	Hvalpevand	Delvis fravænning dag 42
KON	Nej	Ja
VA	Ja	Nej
VA_DE	Ja	Ja

Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28, 42 og 49. Fra dag 28 til dag 49 blev alle døde hvalpe indsamlet og obduceret. Hvalpene blev vejlet dag 28 og 49. Tæverne blev vejlet ved sortering (primo november), 6/1, 24/2 og dag 28 efter fødsel, derudover blev vægtudviklingen i vinterperioden fulgt ved at veje 15 tæver fra VA. Forekomsten af bid blev registreret i alle hold.



**Billede 1. Columbus hvalpevandingsystem.**

De statistiske beregninger blev udført med statistikprogrammet SAS. Proceduren GLM blev anvendt med 5 % som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante.

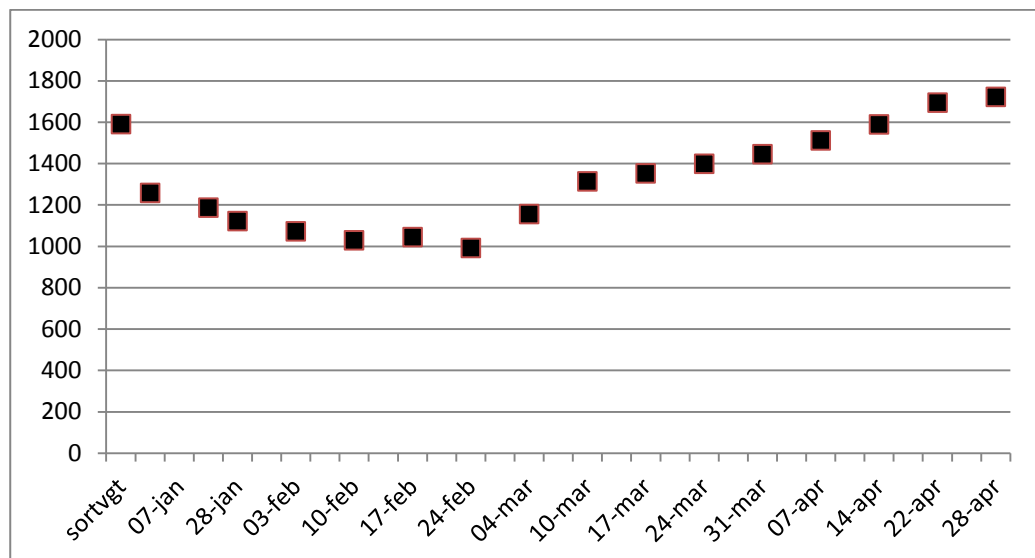
### Resultater og diskussion

Vejeholdets tæver fulgte den planlagte vægtudvikling (figur 1).

Vægtudviklingen for ca. 120 tæver i hvert hold ses af tabel 2. Der var ikke forskel i tævernes vægt ved sortering, og der var ikke forskel ved vejning i januar. I februar var tæverne i VA\_DE lidt tungere end

tæverne i de andre hold, men dette må bero på tilfældigheder, idet alle tæver blev fodret ens. Der var ikke forskel ved vejning dag 28, men dag 49 var der signifikant forskel mellem KON og VA (tendens til forskel mellem VA og VA\_DE,

$p = 0,07$ ). Det ser således ud til at de tæver der beholdt alle hvalpene havde en lavere vægt dag 49, end de tæver hvor hvalpene blev delvis fravænnnet.



Figur 1. Vægtudviklingen i vejeholdet (15 tæver fra hold VA), gram.

Tabel 2. Tævernes vægtudvikling i vinter og dieperioden (gram).

Hold	Sorterings vægt unge *	Vægt 6/1	Vægt 24/2	Tævevægt dag 28	Tævevægt dag 49
KON	1659 (175)	1392 (200)	1092 (161) ab	1441 (168)	1344 a (168)
VA	1623 (154)	1354 (173)	1075 (147) b	1399 (155)	1298 b (166)
VA_DE	1656 (161)	1364 (165)	1114 (143) a	1413 (154)	1337 ab (142)
	NS	NS	0,05	NS	0,04

Tallene i parentes er spredningen. NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne. Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er forskel; \* kun ungtæver blev vejet ved sortering.

Igennem vinter og dieperioden blev der i KON, VA og VA\_DE hhv. mistet 4 %, 2,3 % og 2,3 % af tæverne. Goldprocenten var ikke forskellig mellem holdene (tabel 3).

Der blev født mange hvalpe og der var ikke forskel i dødeligheden mellem holdene (tabel 4).

Tabel 3. Goldprocent

Hold	Gold %
KON	4,4
VA	5,7
VA_DE	9,8
	NS

NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne.

Tabel 4. Kuld størrelse gennem perioden

Hold	ved fødsel	Døde v. fødsel	Dag 28	Dag 42	Dag 49	Mistet i perioden
KON	7,21 (2,60)	0,45 (1,25)	6,56 (2,81)	6,49 (2,73)	6,38 (2,72)	0,83
VA	6,98 (2,61)	0,52 (1,24)	6,65 (2,60)	6,59 (2,41)	6,50 (2,43)	0,48
VA_DE	6,85 (2,76)	0,65 (1,06)	6,29 (2,68)	6,30 (2,58)	6,24 (2,59)	0,61
	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne.

Indtil dag 28 efter fødsel var der ikke forskel i behandlingen af hvalpene og hvalpenes vægt dag 28 var ens i alle hold (tabel 5). Hvalpenes vægt dag 49 var ikke signifikant forskellig mellem holdene, der var dog de største vægte hos de hvalpe som fik vand og blev delt dag 42 (VA\_DE).

Tabel 6 viser antal kuld med bid i de tre forsøgshold. Det fremgår at der var minimum dobbelt så mange kuld med bid i det hold som ikke blev delt dag 42 (VA) sammenlignet med de to delte hold (KON og VA\_DE).

Tabel 5. Hvalpevægte

Hold	Hvalpevægte dag 28, g		Hvalpevægte dag 49, g	
	hanner	tæver	hanner	tæver
KON	217 (36)	200 (33)	591 (103)	516 (82)
VA	217 (35)	196 (31)	598 (101)	507 (77)
VA_DE	220 (42)	202 (39)	616 (107)	528 (85)
	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen. NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne.

Tabel 6. Antal kuld med bid

Hold	Antal kuld med bid	% kuld med bid
KON	2	1,2
VA #	9	5,4
VA_DE	4	2,5

# kuld i hold VA skulle ikke deles, men kuldene blev delt hvis der var bid i kuldet

Resultaterne i denne undersøgelse viser ingen forskel på hvalpetilvækst eller hvalpetab i forsøgsperioden fra dag 28 til fravænning. Andre undersøgelser har tidligere påvist en positiv effekt af ekstra vand tæt på hvalpene på frekvens af bid (De Rond & Kleyn van Willigen, 2012; Jespersen et al., 2014), og på tilvækst hos hvalpene (Clausen & Larsen, 2014). Clausen & Larsen (2014) observerede, ligesom i dette studie, ikke en reduktion i forekomsten af bid mellem kuldene på grund af ekstra vandtildeling. Derimod bekræfter denne undersøgelse resultater fra tidligere studier af Clausen & Larsen (2015a, 2015b) med en tendens til færre bid i de to grupper, hvor de store kuld blev delt dag 42, sammenlignet med holdet hvor kuldene ikke blev delt.

## Konklusion

Der blev i denne undersøgelse ikke observeret en signifikant effekt af at tildele ekstra vand tæt på redekassen hverken på hvalpevægte dag 49, hvalpetab eller kuld med bid. Generelt var der en tendens til at de to hold hvor de store kuld blev delt dag 42, havde færre kuld med bid og bedre tævevægte dag 49, sammenlignet med det hold hvor hvalpene ikke blev delt dag 42.

## Referencer

Brink, A.-L., Jeppesen, L.L. & Heller, K.E., 2004. Behaviour in suckling mink kits under farm conditions: effects of accessibility of drinking water. *Applied Animal Behaviour Science*, 89, 131-137.

Clausen, T.N., & Larsen, P.F., 2015a. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). *Open Journal of Animal Sciences*, 5, 71-76.

Clausen, T. N. & Larsen, P. F., 2015b. Delvis fravænning af minkhvalpe dag 42 reducerer bid i de store kuld. *Faglig Årsberetning 2014*, 163-166. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Clausen, T.N., 2010. Water balance in 8 week old mink kits. NJF Seminar no. 440, September 29 – October 1, 2010, Oslo, Norway, Poster presentation

Clausen, T.N. & Larsen, P.F., 2014. Effekt af ekstra vand i dieperioden. Faglig Årsberetning 2013, 97-100. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

De Rond, J. & Kleyn van Willigen, F.C., 2012. High need for drinking water in young mink kits between 30 and 50 days of age. Xth International Scientific Congress in Fur Animal Production, Copenhagen, Denmark, August 21 – 24. Scientifur, vol. 36, no. 3/4, 341 - 349.

Jespersen, A., Hammer, A.S., Agger, J.F. & Jensen, H.E., 2014. Effekten af vandtildeling i redekassen på forekomsten af sår og dødeligheden hos farmmink (Neovison vison). Faglig

Årsberetning 2013, 139-146. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Møller, S., 1991. Supplementary watering system. In: The influence of various management, environment and nutritional elements on behaviour, physiology and production in mink, 688 Report from the National Institute of Animal Science, Denmark. (Møller, S.H., Hansen, S.W., Lohi, O., Brandt, A., Rasmussen, P.V. & Jensen, L.V.), 33-39.

Steffensen, L.K., Hansen, S.W. & Jeppesen, L.L., 2007. Introducing an open water surface as an alternative to the traditional valve drinker for ranch mink (*Mustela vison*) in the lactation period. Scientifur, Vol. 31, No. 1, 7 – 18.

SAS Institute Inc., 1996. SAS ® System for Mixed Models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 633 pp



# Dieperiodens forløb hos anden-års tæver der har gået med en hanhvalp eller gået alene i den foregående vækstperiode

Tove N. Clausen & Peter Foged Larsen

Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark

## Sammendrag

Formålet med undersøgelsen var at se hvorledes fodringen af avlstæver i vækstperioden påvirker det påfølgende års dieperioderesultater. Til undersøgelsen blev anvendt 768 brune første års tæver, halvdelen blev efter dieperioden sat ud alene og halvdelen blev sat ud sammen med en hanhvalp. Efter pelsning blev tæverne huldstyret, fodret og passet efter samme principper.

Det var ikke muligt at se en effekt på dieperiodens resultater som følge af at tæverne havde gået med en hanhvalp eller ej i vækstperioden.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Dieperiodens forløb hos anden-års tæver der har gået med en hanhvalp eller gået alene i den foregående vækstperiode. Faglig Årsberetning 2015, 147-149. Kopenhagen Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

The purpose of the investigation was to see how the feeding of breeding females in the growing period affects next year's reproduction. We used 768 brown first-year females, half of them were placed alone after weaning and half were placed with a male kit. After pelting the females were fed and handled equally.

It was not possible to see any effect on reproduction results depending on whether the female had been alone in a cage in the growing period or together with a male kit.

**Clausen, T.N. & Larsen, P.F. 2016.** Reproduction in second year old females who was kept alone or with a male kit in the previous growth period. Annual Report 2015, 147-149. Kopenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Body weight, growth period, litter size

## Indledning

Mange avlstæver sættes efter dieperioden ud sammen med en hanhvalp. Fordelene er dels pladsbesparelse og dels at tæverne æder mere og bliver større til pelsning, hvis de går med en hvalp. En undersøgelse af Boudreau et al. (2014) viste at tæver, som gik med en hanhvalp og blev opfedet i vækstperioden, fik mere end en hvalp mindre i den efterfølgende reproduktionsperiode, end hvis tæven havde været fodret moderat i den forudgående vækstperiode.

## Materiale og metoder

Til undersøgelsen blev anvendt 768 brune første års tæver. Tæverne der blev udvalgt havde haft mere end 5 hvalpe dag 28 efter fødsel og havde født før 5/5. Fordelingen i de to hold (384 tæver pr hold) var ligeligt fordelt med hensyn til fødselsdato og kuldstørrelse dag 28. Kontrolholdets tæver (U\_han) blev placeret alene og forsøgsholdets tæver (M\_han) fik en

hanhvalp med ud. I begge grupper blev der fodret efter ædelyst. Til pelsning blev udvalgt ca. 300 tæver fra hver gruppe til avlsperioden 2015, disse blev fordelt ligeligt i avlsperiodens hold. I vinterperioden blev tæverne huldstyret, fodret og passet efter samme principper i de to hold (Nielsen, et al., 2013).

Tæverne blev vejet 6. november, 6. januar, 24. februar, dag 28 og dag 49 efter fødsel samt huldvurderet 9. januar, 9. februar, 21. april og dagen efter fødsel (Hynes et al., 2004). Hvalpene blev talt ved fødsel, dag 28 og dag 42, et udsnit af kuldene blev vejet dag 28 og dag 49. Døde hvalpe blev registreret hele perioden og obduceret fra dag 28. I tilfælde af bid / slagsmål blev dette registreret, hvalpene blev behandlet og kudet blev delt, ligeledes blev antallet af kuld med utrivelige hvalpe registreret. I alle hold blev kuld med 6 hvalpe og flere delvist fravænnnet dag 42 efter fødsel for at undgå

bid blandt hvalpene (Clausen & Larsen, 2015).

Kropsvægte og kuldresultater blev analyseret med statistikprogrammet SAS. Procedurene GLM (ss4), LSMEANS/PDIFF blev anvendt med 5 % som signifikansniveau. Relevante kovariater blev medtaget i de tilfælde de var signifikante. Forskel i huld og goldprocent blev analyseret med  $X^2$  eller Probit.

### Resultater og diskussion

Tævernes vægt ved sortering i november var forskellig (tabel 1), idet tæver der havde gået med en han vejede i gennemsnit godt 90 gram mere end

tæver der havde gået alene. I januar og februar var der ikke forskel på vægtene. Det antages derfor at huldstyringen havde fungeret efter hensigten (tabel 2). Der var 1,6 % uparrede tæver i U-han og 3,9 % i M-han. Omparrings-procenten var 82–84 %, disse varierer dog meget og kan også skyldes hannerne. Dagen efter fødsel viste huldvurderingen en højere gennemsnitlig karakter ved de tæver der havde gået med en hanhvalp (tabel 2), men der var ikke forskel i antal tæver med fødselsbesvær i de to grupper (1 tæve i U-han og 2 i M-han). Ved vejning dag 28 og dag 49 (ca. 165 kuld pr hold) var der ikke forskel i tævernes vægt (tabel 1).

**Tabel 1. Tævernes vægtudvikling gennem perioden**

	Vægt				
	6. nov - 14	6. jan - 15	24. febr	Dag 28	Dag 49
U_han	1822 (221) b	1610 (260)	1294 (206)	1529 (198)	1392 (189)
M_han	1916 (212) a	1622 (220)	1271 (195)	1510 (188)	1365 (205)
p-værdi	< 0,0001	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne; Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er signifikant forskel

**Tabel 2. Tævernes huld udvikling gennem perioden**

	Huld			
	9. jan	9. febr	21. apr	Dagen efter fødsel
U_han	3,08 (0,40)	2,20 (0,41)	3,11 (0,32)	3,06 (0,41) b
M_han	3,05 (0,36)	2,18 (0,39)	3,12 (0,33)	3,14 (0,40) a
p-værdi	NS	NS	NS	0,03

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne; Forskellige bogstaver i kolonnen angiver at der er signifikant forskel

Reproduktionsresultaterne var ikke forskellig mellem grupperne (tabel 3). Kuldstørrelsen var høj ved fødsel. Goldprocenten var lav i begge hold (tabel 3).

Hvalpevægte dag 28 og dag 49, viste ligeledes ikke forskel mellem de to grupper (tabel 4). Det var således ikke muligt at se en effekt på dieperiodens resultater som følge af at tæverne havde gået med en hanhvalp eller ej i

vækstperioden. Tæverne i kontrolgruppen var imidlertid fodret efter ædelyst og var således i god huld ved pelsning. Det er muligt resultaterne havde været anderledes hvis tæverne havde været fodret lidt tilbageholdende til huld 3 ved pelsning, og dermed ikke skulle gennem en slankeperiode i vinterperioden. Det vil blive undersøgt i en kommende dieperiode.

*Dieperiodens forløb hos anden-års tæver der har gået med en hanhvalp  
eller gået alene i den foregående vækstperiode*

**Tabel 3. Kuldstørrelse og gold procent**

	Kuldstørrelse				Gold procent
	Levende v. fødsel	Døde v. fødsel	Dag 28	Dag 42	
U_han	8,13 (2,48)	0,49 (1,15)	7,45 (2,63)	7,35 (2,45)	4,1
M_han	8,02 (2,57)	0,47 (0,98)	7,53 (2,54)	7,50 (2,31)	3,7
p-værdi	NS	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne

**Tabel 4. Hvalpevægte dag 28 og dag 49**

	Hvalpevægte dag 28		Hvalpevægte dag 49	
	Hanner	Tæver	Hanner	Tæver
U_han	227 (35)	207 (32)	641 (133)	553 (93)
M_han	224 (34)	204 (29)	633 (139)	547 (99)
p-værdi	NS	NS	NS	NS

Tallene i parentes er spredningen; NS angiver at der ikke er signifikant forskel mellem tallene i en kolonne

## Konklusion

Det var ikke muligt at se en effekt på dieperiodens resultater som følge af at tæverne havde gået med en hanhvalp eller ej i vækstperioden.

## Referencer

Boudreau, L., Benkel, B, Astatkie, T. & Rouvinen-Watt, K. 2014. Ideal body condition improves reproductive performance and influences genetic health in female mink. *Animal Reproduction Science*, 145 (1-2), 86–98.

Clausen, T.N & Larsen, P.F., 2015. Partial Weaning at Six Weeks of Age Reduces Biting among Mink Kits (Neovison Vison). *Open Journal of Animal Sciences*, 5, 71-76.

Hynes, A.M., Rouvinen-Watt, K. & Armstrong, D., 2004. Body condition and glycemic control in mink females during reproduction and lactation. VIII International Scientific congress in Fur Animal Production, Den Bosch, The Netherlands, Sep-tember 15 – 18. *Scientifur*, 28, 3, 79 - 86.

Nielsen, E., Larsen, P.F. & Clausen, T.N., 2013. Effect of body condition on litter size in mink Experience from Copenhagen Farm. Poster presentation NJF Seminar 464, 28-30 August 2013.